

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biochemických věd

METODY STANOVENÍ A ODHADU GLOMERULÁRNÍ FILTRACE
METHODS FOR IDENTIFYING AND ESTIMATING GLOMERULAR
FILTRATION

(Bakalářská práce)

Studijní program: Zdravotnická bioanalýtika
Studijní obor: Zdravotní laborant - kombinovaná forma
Vedoucí bakalářské práce: Prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.
Odborný školitel: Prim. MUDr. Vlasta Petříková
Práce byla vypracována v ÚKBH LF UK a FN Plzeň

PROHLÁŠENÍ

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracovávání bakalářské práce čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.“ Data použitá v této práci jsou dohledatelná v laboratorním informačním systému ÚKBH LF UK a FN Plzeň.

V Hradci Králové dne

.....

PODĚKOVÁNÍ

Dovoluji si touto cestou především poděkovat vedoucí mé bakalářské práce
Prim. MUDr. Vlastě Petříkové za odborné vedení a za věcné připomínky. Dále si velké
poděkování zaslouží MUDr. Daniel Rajdl, Ph.D. za pomoc při analýze získaných dat.

OBSAH

1	ÚVOD	6
2	CÍLE	7
3	OBECNÁ ČÁST	8
3.1	Fyziologie ledvin a vývodních cest močových	8
3.1.1	Fyziologie vylučování	8
3.1.2	Fyziologie ledvin	8
3.1.3	Vývodné cesty močové	9
3.1.4	Močový měchýř	9
3.1.5	Močová trubice	10
3.2	Přehled stavby a funkce ledvin	10
3.2.1	Ledviny	10
3.2.2	Podstata tvorby moči	10
3.3	Funkční morfologie ledvin	11
3.3.1	Glomerulus	11
3.3.2	Proximální tubus	13
3.3.3	Henleova klička	13
3.3.4	Distální nefron	14
3.3.5	Juxtaglomerulární aparát	15
3.3.6	Ledvinové intersticiium	15
3.3.7	Inervace ledvin	16
3.3.8	Krevní zásobení ledvin	16
3.3.9	Renální autoregulace	18
3.3.10	Glomerulární filtrace	18
3.3.11	Glomerulární filtr	18
3.3.12	Činnost tubulů	21
3.4	Procesy v dřeni ledvin a konečná úprava moči	23
3.5	Úloha ledvin při homeostáze vnitřního prostředí	24
3.6	Regulační a modulační působení dalších hormonů a signálních molekul na ledviny	25
3.7	Funkce ledvin v udržování acidobazické rovnováhy	25
3.8	Patologie ledvin	26
3.8.1	Nemoci glomerulů	26
3.8.2	Porucha glomerulární selektivní permeability, nefrotický syndrom	27
3.8.3	Intersticiální nefritida	28
3.8.4	Clearance	28
3.9	Principy měření glomerulární filtrace	29
3.10	Metody stanovení glomerulární filtrace se sběrem moče	32
3.10.1	Inulin	32
3.10.2	Renální clearance inulinu	32
3.10.3	Plazmatická clearance inulinu	34
3.11	Kreatinin	35
3.11.1	Změny koncentrace kreatininu	36
3.11.2	Možnosti ovlivnění v preanalytické fázi	36
3.11.3	Stanovení kreatininu	37
3.12	Cystatin C	40
3.12.1	Renální clearance endogenního kreatininu	41
3.13	Metody stanovení glomerulární filtrace bez sběru moči	42
3.13.1	Renální clearance látek značených izotopem	42

3.13.2	Plazmatická clearance iohexolu	42
3.14	Možnosti určování odhadu GFR	43
3.14.1	Odhad clearance kreatininu podle Cockcrofta a Gaulta	43
3.14.2	Odhad GF u dětí pomocí rovnice podle Schwarze	43
3.14.3	Odhad GF ze sérového (plazmatického) cystatinu C dle Grubba	44
3.14.4	Určení eGFR pomocí rovnic Lund-Malmö	44
3.14.5	Určení eGFR pomocí rovnice MDRD	44
3.15	Ostatní rovnice k určení glomerulární filtrace	45
3.15.1	Určení eGFR pomocí kvadratické rovnice Mayo Clinic	45
3.15.2	Určení eGFR pomocí clearance kreatininu (a urey)	45
3.15.3	Odhad eGFR podle rovnice Counahana a Barratta	46
3.15.4	Určení eGFR podle rovnice CKD-EPI	46
3.15.5	Rovnice EBPB	46
3.16	Praktická aplikace	47
4	PRAKTICKÁ ČÁST	47
4.1	Sběr dat	47
4.2	Charakteristika získaných dat	48
4.2.1	Věk	48
4.2.2	Diuréza	49
4.2.3	Výška	49
4.2.4	Váha	50
4.2.5	Sérový kreatinin	50
4.2.6	Sérový cystatin C	51
4.2.7	Odhad glomerulární filtrace MDRD	52
4.2.8	Odhad glomerulární filtrace Lund-Malmö	52
4.2.9	Odhad glomerulární filtrace z cystatinu C dle Grubba	53
4.2.10	Odhad glomerulární filtrace Cockcrofta a Gaulta	54
4.2.11	Clearance endogenního kreatininu	54
4.3	Výběr metod pro porovnání glomerulární filtrace	55
4.4	Výpočet glomerulárních filtrací	55
4.5	Porovnání vypočítaných a odhadnutých metod stanovení GF	55
4.5.1	Porovnání GF měřené dle clearance endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice MDRD	56
4.5.2	Porovnání GF měřené dle clearance endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Lund-Malmö	57
4.5.3	Porovnání GF měřené dle clearance endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Grubba	59
4.5.4	Porovnání GF měřené dle clearance endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Cockcrofta a Gaulta	61
4.5.5	Porovnání GF odhadnuté dle rovnice MDRD a rovnice Lund-Malmö	62
4.5.6	Porovnání GF odhadnuté dle rovnice Lund-Malmö a rovnice Grubba	64
4.6	Srovnání vlivu metody použité k odhadu GF na klinickou klasifikaci chronické renální insuficience dle KDOQI	65
5	Diskuze	68
6	Závěr	68
7	Použita literatura	71

1 ÚVOD

Jedna z nejdůležitějších funkcí ledvin je filtrace krevní plazmy. Je to proces, při kterém se z krve aktivně odstraňují tělu nepotřebné a v některých případech i tělu škodlivé látky. O hodnotě filtrace krevní plazmy ledvinami nás informuje jev zvaný glomerulární filtrace. Jedná se tedy o parametr, mající velkou výpovědní hodnotu o aktuálním stavu a funkci ledvin. Proto je také lékaři hojně ordinován. Glomerulární filtraci je možno stanovit přímými metodami se sběrem nebo bez sběru moče. Dá se též odvodit nepřímo z různých výpočtových vzorců. Cílem této práce je shrnutí a porovnání metod používaných při stanoveních a odhadech glomerulární filtrace a jejich stručná charakteristika.

2 CÍLE

1. Souhrn poznatků, souvisejících s metodami stanovení a odhadu glomerulární filtrace.
2. Sběr, interpretace a analýza získaných dat.
3. Porovnání metod stanovení a odhadu glomerulární filtrace prováděných v laboratoři ÚKBH LF UK a FN Plzeň.

3 OBECNÁ ČÁST

3.1 Fyziologie ledvin a vývodních cest močových

3.1.1 Fyziologie vylučování

Vylučování neboli exkrece je odstraňování, eliminace látek z organismu. Vylučovány jsou látky, jejichž nahromadění by narušilo stálé složení vnitřního prostředí (homeostázu) a nakonec způsobilo jeho rozvrat, který by mohl vést až ke smrti organismu. Patří sem zplodiny a různé intermediální produkty látkové přeměny, látky již biologicky či energeticky nehodnotné, přebytečná množství anorganických solí a vody, hormony a vitamíny a produkty jejich odbourávání, různé cizorodé látky (např. léky a škodlivé látky ze zevního prostředí) aj. Tyto látky se odstraňují z těla řadou orgánů, jež jsou pro tuto funkci v různé míře specializovány. Nejvýznamnějším vylučovacím orgánem jsou ledviny. Na vylučování se dále významným způsobem podílejí plíce, jimiž se z těla odstraňuje oxid uhličitý; z ostatních orgánů jsou to játra, trávicí ústrojí a kůže. /1 /

3.1.2 Fyziologie ledvin

Ledviny mají řadu závažných funkcí. Jsou v klasickém pojetí nejdůležitějším vylučovacím orgánem a odstraňují z těla většinu odpadových látek, které by při nahromadění působily toxicky. Vylučují také řadu látek tělu cizích (např. léky apod.). Vylučování úzce souvisí s hlavní funkcí ledvin, kterou je udržování homeostázy. Ledviny jsou schopny odstraňovat z těla i látky tělu potřebné, resp. nezbytné, tj. vodu a elektrolyty, jsou-li v přebytku, nebo je naopak při nedostatku v těle zadržovat. Jsou ultimativním orgánem pro udržování stálého pH vnitřního prostředí. Při acidóze vylučují kyselou moč a šetří organismu hydrogenkarbonátové báze, které při alkalóze naopak vylučují. Množství a složení moči se proto v určitém rozmezí mění podle potřeb organismu, podle stavu hospodaření vodou a solemi. Všechny tyto funkce ledvin jsou citlivě regulovány a ledviny se uplatňují jako životně důležitý orgán při udržování stálých fyzikálně chemických vlastností extracelulární tekutiny. Zajišťují její stálé pH, její osmolalitu a objem a obsah elektrolytů a dalších rozpuštěných látek.

Ledviny fungují i jako endokrinní orgán a podílejí se na hospodaření elektrolyty a vodou produkcí reninu (systém renin-angiotenzin) včetně intrarenálního receptního mechanismu, jenž rozhoduje o jeho uvolňování do krve. Tvoří se v nich celá řada dalších biologicky aktivních látek a signálních molekul, které působí většinou přímo v ledvinách nebo se dostávají krví do systémového oběhu a k dalším cílovým orgánům a tkáním (systém kallikrein-kinin, prostaglandiny, endoteliny, dopamin, oxid dusnatý, různé růstové faktory a cytokiny aj.). Tvorbu hormonu a erythropoetinu se ledviny zařazují do fyziologického regulačního obvodu, jímž je udržován stálý tlak O_2 ve tkáních.

Názorným příkladem nezastupitelnosti ledvin pro udržení homeostázy je jejich úloha v hospodaření vodou. Konstantní obsah vody v těle je výsledkem vyrovnané vodní bilance. Denní obrát vody představuje průměrně 2450 ml. Jestliže si všimneme jednotlivých položek blíže, zjistíme, že perspiratio insensibilis a výdej vody dýcháním nejsou dost dobře ovlivnitelné a jsou stálé, ztráty stolicí jsou rovněž obligátní, pocení slouží termoregulaci, příjem vody nápoji a potravou je nejistý a proměnlivý a závisí na nejrůznějších okolnostech, množství oxidační vody není velké a je dáno úrovní metabolismu. Z přehledu tedy vyplývá, že to mohou být pouze ledviny, které jsou schopny vyrovnat disproporce, tzn. vodou šetřit nebo naopak její přebytky vyloučit. Při zvýšených ztrátách vody je omezení jejího vylučování ledvinami navíc kombinováno pocitem žízně a deficit vody je vyrovnán vypitím chybějícího

množství. Podobně by bylo možné vyčíslit hospodaření elektrolyty, v němž jsou pro udržení vyrovnané bilance rovněž hlavním výkonným orgánem ledviny.

Ledviny jsou pro život nezbytné. Jejich vnyětí u experimentálního zvířete nebo akutní selhání jejich funkce u člověka přivodí v důsledku rozvratu vnitřního prostředí během 1 až 3 týdnů smrt postiženého jedince. /1,2,3 /

3.1.3 Vývodné cesty močové

Vývodné cesty močové jsou tvořeny ledvinovými kalichy, pánevičkami, močovody (uretery), močovým měchýřem a močovou trubicí. Ledvinové kalichy (v počtu 4-14) obemykají papily, jejichž vývody do nich teče nepřetržitě moč. Jedním papilárním vývodem přitéká moč z asi 2700 nefronů. Kalichy mají pohárkovitý tvar; prvotní menší se spojují ve větší, které se sbíhají a tvoří ledvinovou pánevičku. Pánevička je dutý nálevkovitý útvar v hilu ledviny, z něhož vystupuje močod. Svalovina kalichů a pánevičky je uspořádána spirálně a je cirkulárně zesílena v místě obemknutí papil, při přechodu kalichů do pánevičky a u odstupu ureterů. Svalovina při úponu kalichu na papilu pomáhá vypuzovat moč z papilárních vývodů. Uretery jsou trubice o průměru 4-7 mm a délce 25-30 cm. Sestupují svisle dolů k močovému měchýři, do jehož spodiny pronikají šikmo, z laterální strany a shora. Svalovina stěny ureteru se skládá z vnitřní podélné a zevní cirkulární (či spíše spirální) vrstvy, k níž přibude v pánevním úseku ještě zevní podélná vrstva.

Svalovina popsaných oddílů má tu vlastnost, že se při dispenzi kontrahuje. Rozepnutí pánevičky a horní části uteru močí vyvolá peristaltické kontrakce, které začínají na pánevičce a pokračují podél ureteru. Za minutu se uskuteční 1-5 takových kontrakcí, ale při vystupňované tvorbě moči, kdy je náplň a tedy dispenze zvýšena, může jejich frekvence stoupnout až na 20 i více. Moč neprotéká močovody volně, ale v dávkách, tvořících tzv. močové vřeténko; svalovina je totiž nad a pod obsahem stažena a vřeténko je posunováno směrem k měchýři. Na ureteru je vždy jen jedno vřeténko. Tento aktivní transport vtlačí moč i do naplněného měchýře, takže se nemůže v odvodných cestách hromadit a její odtok z kalichů a páneviček je plynulý.

Inervace kalichů a pánevičky pochází s plexus renalis a obsahuje sympatická a senzitivní vlákna. Šikmý průnik ureterů do měchýře zabezpečuje i bez přítomnosti anatomických sfinkterů uzávěr jejich ústí, která se otvírají pouze při příchodu peristaltické vlny a zabraňuje zpětnému toku (refluxu) moči z měchýře zpět do ureteru. Roztažený měchýř také sám brání refluxu tím, že uretery stlačuje. /1/

3.1.4 Močový měchýř

Močový měchýř je dutý orgán za symfýzou; v naplněném stavu má ovoidní tvar, ochablý je na řezu trojhranný. Sliznice měchýře produkuje tzv. vnitřní (intrinsický) faktor, který má antibakteriální účinky. V měchýři totiž vždy zůstává i po vyprázdnění něco málo moči a v ní se mohou rozmnožovat bakterie.

Poměrně silná svalovina stěny měchýře probíhá cirkulárně, podélně i spirálně, ale jednotlivé vrstvy nejsou přesně rozlišeny. Všechny tvoří funkční celek, který obstarává vyprazdňování měchýře a nazývá se m. detrusor.

Močový měchýř slouží k přechodnému shromažďování moči a jejímu vyprazdňování. Při plnění močového měchýře stoupá tlak velmi málo až do určitého stupně náplně, což je umožněno značnou plastičností jeho svaloviny. V močovém měchýři se zvyšuje napětí s náplní, ale protože se současně zvětšuje poloměr, stoupá až do určité náplně tlak jen mírně. Fyziologická kapacita měchýře je 250-300 ml, měchýř však může, díky možnosti svého roztažení, pojmout 500-700 ml. První pocit nucení se dostavuje při náplni asi 150 ml, naléhavý pocit odpovídá náplni okolo 400 ml. /1/

3.1.5 Močová trubice

Močová trubice (uretra) je u ženy krátká a probíhá mezi symfýzou a vaginou, u muže je dlouhá a je zároveň vývodnou součástí pohlavního ústrojí. Sliznice uretry se skládá v podélné řasy. Svalovina je tvořena vnitřní podélnou a zevní cirkulární vrstvou.

Močení (mikce) je míšní reflex, modulovaný z vyšších mozkových center a podléhající volní kontrole. Ve stěně močového měchýře jsou baroreceptory, ale práh výbavnosti mikčního reflexu je řízen stupněm aktivity facilitačních a inhibičních center mozkového kmene. Volní ovládání mikce je řízeno z premotorické oblasti mozkové kůry (gyrus frontalis superior). Toto volní ovládání se vyvíjí až po narození a jeho dozrávání trvá 3-4 roky. Vlastní močení probíhá tak, že se vlivem parasympatiku kontrahuje m.detrusor, krček se otevře a nabude nálevkovitého tvaru, volním úsilím relaxuje zevní svěrač a svaly pánevního dna a moč odtéká utretou. Vypuzování moči může nastat při volním vybavení míšního vyprazdňovacího reflexu i tehdy, je-li náplň menší a nenastal ještě pocit nucení. Takové vypuzení je podporováno i stahy břišního svalstva, které způsobí zvýšení nitrobřišního tlaku. To ukazuje, že volní ovládání močení je složitější a uskutečňuje se z více oblastí mozkové kůry. /1/

3.2 Přehled stavby a funkce ledvin

3.2.1 Ledviny

Ledviny jsou párový orgán uložený po stranách bederní páteře. Jedna ledvina je dlouhá 10-12 cm, široká 5-6 cm a váží 120-170 g. Celková hmotnost ledvinové masy činí u člověka 240-340 g, což představuje 0,3-0,5 % tělesné hmotnosti. Makroskopicky můžeme rozlišit na řezu ledvinou tmavší, jemně zrnitou kůru, a světlejší žíhanou dřev. Dřev se skládá ze 4-14 pyramid a dělíme ji na další vrstvy: zevní a vnitřní zónu, přičemž zevní zóna má ještě zevní a vnitřní proužek. Vnitřní dřev je tvořena apexy pyramid, papilami. Členění na vrstvy vyplývá nejen z morfologického uspořádání a uložení jednotlivých oddílů nefronů a cévního řečiště ledviny, ale je dáno i odlišnými osmotickými poměry v jednotlivých vrstvách (osmotická stratifikace ledvin): prostředí v kůře je izotonické, kdežto dřevové intersticiu je hypertonické, přičemž jeho osmolalita směrem od zevního proužku zevní zóny k papile stoupá. Nejmenší a zároveň základní morfologickou a funkční jednotkou ledviny je nefron. Jedna ledvina obsahuje 1 až 1,2 miliónu nefronů. Nefron se skládá z glomerulu, proximálního tubulu, Henleovy kličky a tzv. distálního nefronu, tvořeného distálním tubulem, spojovacím segmentem a sběracím kanálkem, který má sice odlišný embryonální původ (vyvíjí se z ureterálního pupenu) a morfologicky tedy k nefronu nepatří, ale funkčně je jeho součástí. Jednotlivé nefrony se navzájem liší délkou a prostorovým uspořádáním v ledvině. Superficiální nefrony mají glomeruly uloženy blízko povrchu kůry a mají poměrně krátké Henleovy kličky, zasahující do zevní zóny dřev. Jinak jsou situovány nefrony, které mají tzv. juxtamedulární glomeruly. Tyto glomeruly jsou větší a leží v hlubokých vrstvách kůry, hraničících s dřev. Henleovy kličky těchto nefronů zasahují hluboko do vnitřní zóny dřev. Zbylé nefrony je možné označit za intermediární; jejich glomeruly jsou ve středních vrstvách kůry, kličky sahají asi do poloviny vnitřní zóny dřev. Obecně platí, že u člověka je 85 % nefronů superficiálních ((též se označují jako korové, včetně intermediárních) a 15 % juxtamedulárních. Ledviny vykazují obrovskou výkonnost, založenou na velkém počtu nefronů. Některé specializované funkce, zejména schopnost koncentrovat moč, vyžadují „kolektivní“ spolupráci. Při výpadku většího počtu nefronů dojde k omezení či ztrátě této schopnosti. /1,2,3 /

3.2.2 Podstata tvorby moči

Exkret vytvářený ledvinami je moč, která obsahuje přebytky vody, soli a odpadních látek. Její koncentrace je za obvyklých podmínek 4x větší než krevní plazmy. Množství moči

za den kolísá, podle příjmu tekutin, v dosti širokém rozmezí okolo hodnoty 1000 až 1500 ml. Za extrémních podmínek nedostatku vody se může moči tvořit jen 500 ml, což je minimální objem pro vyloučení látek které musí být z těla odstraněny; při opakovaném „zaplavování“ organismu vodou stoupne množství moči na několik litrů, při zástavě sekrece antidiuretického hormonu až na hodnotu okolo 20 litrů silně hypotonické moči za den. Měrná hmotnost moči činí v průměru 1015 až 1024, může však dosahovat hodnot od 1001 až do 1040. Stejně tak i pH moči je proměnlivé, neklesá však pod 4,5, směrem nahoru může činit až 8,0; za obvyklých podmínek je moč kyselá (pH 5,8 až 6,0).

Složení moči se liší od složení plazmy i tkáňového moku. Jsou v ní, kromě bílkovin, glukózy a aminokyselin obsaženy prakticky všechny přirozené součásti plazmy, ovšem většinou v jiné, vyšší nebo nižší koncentraci. Nažloutlé zbarvení moči je způsobeno urochromem, který se v plazmě nevyskytuje. Také amonný kation pochází z ledvin nikoliv z plazmy. Zhruba však můžeme říci, že se moč liší od plazmy jen jiným poměrem rozpuštěných látek.

Ve stručném přehledu vypadá tvorba moči takto: v glomerulárních kapilárách se odfiltruje tekutina, ultrafiltrát krevní plazmy, do dutiny Bowmanova pouzdra. Tento děj se nazývá glomerulární filtrace, složení tekutiny je virtuálně shodné se složením plazmy bez bílkovin. Glomerulární filtrát pak protéká tubuly, kde se činností tubulárních buněk – tubulárním transportem - význačně mění jeho složení a objem, a to dvěma procesy: tubulární resorpcí, což je vstřebávání látek a vody zpět do krve, a tubulární sekrecí. Tubulární sekrece je vylučování látky přes tubulární buňky do tubulární tekutiny. Nejdůležitější je tubulární resorpce, kterou se odčerpávají z původního glomerulárního filtrátu rozpuštěné látky, a to různě rychle a různě účinně. Některé jsou z tubulární tekutiny úplně odstraněny a kvantitativně vráceny zpět do krve a ve vylučované moči se proto neobjeví. Jiné jsou resorbovány méně účinně a objevují se v různém množství v moči; některé látky se neresorbují vůbec. Kvantitativně největší resorpce se týká NaCl a H₂O. Obrovská výkonnost ledvin vynikne z číselných údajů: za den se v glomerulech profiltruje 170 až 180 litrů glomerulárního filtrátu. Uvážíme-li, že člověk vymočí za tutéž dobu asi 1 až 1,5 litru moči, což je méně než 1% původního filtrátu, musí se v intrarenálních cestách obvykle resorbovat více než 99% vody. Ještě více si rozsah těchto čísel uvědomíme, když si představíme, že celková tělesná voda 70 kg muže (42 l) se vlastně odfiltruje a zpětně resorbuje zhruba 4x za den, extracelulární tekutina (11-14 l) 15x a plazmatická voda (3-3,5 l) asi 60x za den. Stejně můžeme vypočítat i „obrat“ některých rozpuštěných látek: sodíku je denně filtrováno okolo 540 g a zpětně resorbováno 537 g. I s chloridy činí odfiltrované a zpětně resorbované množství NaCl, odhlédneme-li od poměrně malého množství, které se vyloučí, zhruba 1 kg denně. Glukózy se filtruje i resorbuje asi 180 g denně atd. naopak, jiné látky, které mají vysoký koncentrační index, se neresorbují vůbec nebo málo nebo jsou tubuly secernovány. Všechna tato čísla ukazují výkonnost ledvin a jejich význam v udržování homeostázy a i ekonomičnost regulačních mechanismů. /1/

3.3 Funkční morfologie ledvin

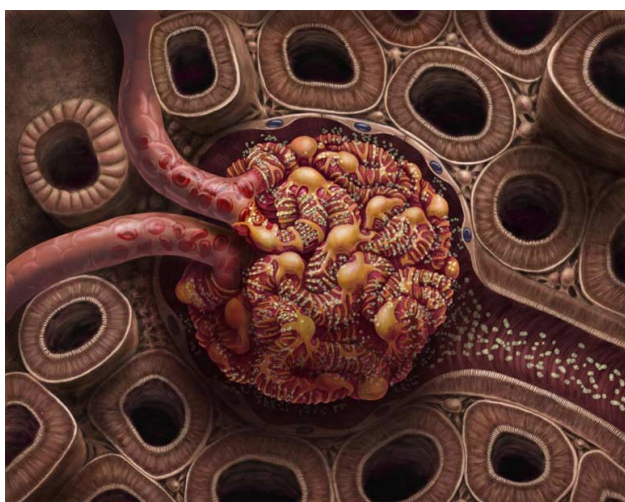
3.3.1 Glomerulus

Název pochází od latinského slova glomerare (svinouti v klubko, stlačit v chumáč) a pleteň kapilárních kliček byla vždy charakterizována jako klubičko.

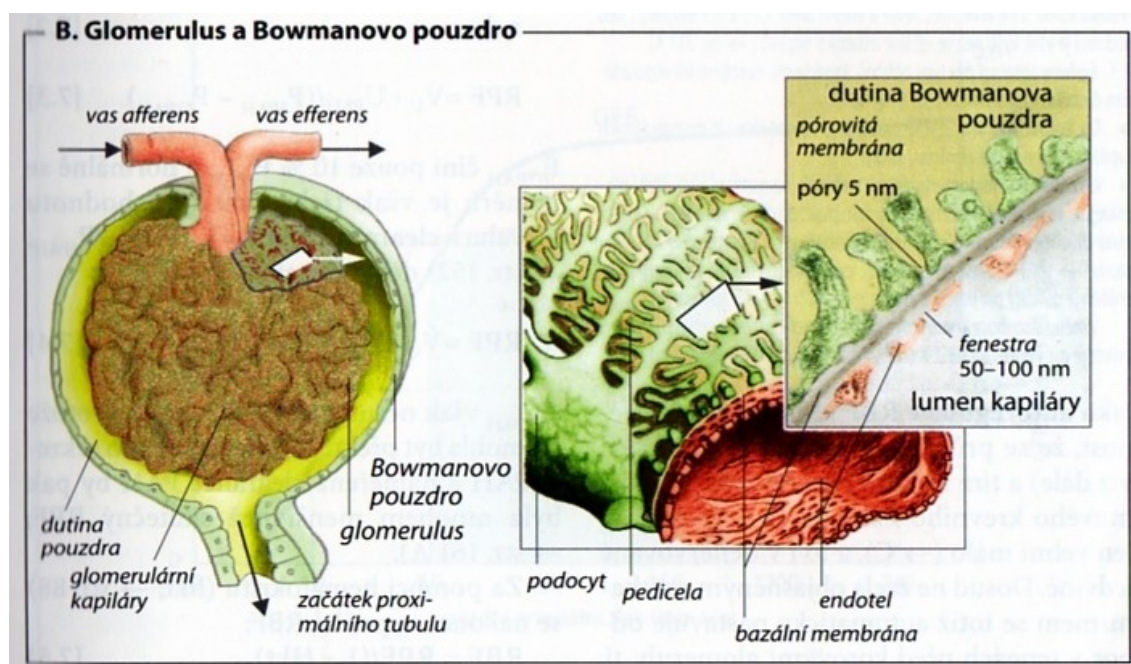
Glomerulus je ve skutečnosti jen část počátečního oddílu nefronu, jehož správný název je ledvinové (nebo Malpighiho) tělísko. Ve fyziologii a i v klinických oborech se vžilo označení glomerulus pro celý útvar. Ledvinové tělísko má asi 200 um v průměru a skládá se z komplexu kapilárních kliček – glomerulu, uzavřeného do slepě počínajícího váčkovitě vchlípeného začátku nefronu – Bowmanova pouzdra. Vlastní glomerulus je pleteň více než 50 paralelních kapilár, které se větví a navzájem anastomozují.

Glomerulární kapiláry jsou obklopeny nepodajnou bazální membránou, na kterou naléhají epitelové buňky Bowmanova pouzdra (podocyty). Toto pouzdro má dva listy, zevní, parietální, který přechází ve stěnu proximálního tubulu, a vnitřní, viscerální, který kryje kapiláry a těsně na ně přiléhá. Mezi oběma listy je dutinka, která pokračuje do lumen proximálního tubulu.

Krev je do glomerulárních kapilár přiváděna jedinou krátkou a poměrně širokou arterioulou, vas afferens, a odtéká užší arterioulou, vas efferens. Uspořádání glomerulu je jedinečné tím, že kapilární pletěň je vložena mezi dvě odporové cévy, arterioly, což má značný význam pro udržování filtračního tlaku. Celková plocha glomerulárních kapilár, v nichž dochází k filtraci, činí okolo $1,5 \text{ m}^2$, tedy téměř tolik jako povrch těla. Centrum glomerulu mezi kapilárami vyplňuje zvláštní buněčná struktura – mesangium. Intraglomerulární mesangium je seskupení mononukleárních hvězdicovitých buněk, zanořených do extracelulární amorfni matrix. Toto seskupení tvoří jakési jádro (stvol) glomerulu, obklopené kapilárními kličkami. /1,2,3/



Obr.1. Glomerulus v elektronovém mikroskopu /18/



Obr.2. Glomerulus a Bowmanovo pouzdro /19/

3.3.2 Proximální tubus

Za glomerulem začíná tubulární část nefronu, která se skládá z více histologicky odlišných oddílů, z nichž každý má své vlastní jedinečné funkční charakteristiky. První a nejdelší (asi 15 mm) je proximální tubulus, který představuje 80% celé tubulární struktury a je odpovědný za resorpci největšího podílu glomerulárního filtrátu. Jeho buňky podávají největší transportní výkon ze všech buněk těla. Má okolo 50 μm v průměru a jeho první úsek je bohatě vinutý; konečná část je přímá a směřuje ke dřeni, kde přechází v sestupné raménko Henleovy kličky. Stěnu proximálního tubulu tvoří jednovrstevný kubický epitel, jehož povrch, obrácený do lumen, je opatřen hustým kartáčovým lemem. Jsou to pravidelně uspořádané microvilli, jimiž se ohromně zvětšuje plocha styku buněk s tubulární tekutinou. Tak jako je tubulární epitel pokračováním parietálního listu Bowmanova pouzdra, navazuje bazální membrána tubulu na glomerulární bazální membránu. Buňky tubulárního epitelu k bazální membráně adherují a toto spojení má zásadní význam pro orientaci a normální funkci tubulárních buněk.

S funkcí buněk proximálního tubulu nedílně souvisí jejich tvarové uspořádání. Stěny sousedících buněk jsou nepravidelné a nepřiléhají na sebe; vznikají mezi nimi štěrby, uzavřené v blízkosti lumen tubulu terminálními uzávěry neboli spojovacími komplexy. Bazální povrch buněk je členěn a tvoří četné cytoplazmatické výběžky, mezi nimiž vznikají hluboké zářezy. Výběžky jsou navzájem bohatě propleteny (interdigitace). Buňky obsahují mnoho velkých mitochondrií, lokalizovaných zejména v místech přiléhajících k výběžkům. Velká jádra jsou umístěna při bázi buněk. Buňky obsahují často pinocytární vezikuly, které jsou indikátorem resorpce malého množství filtrovaných proteinů. Intercelulární laterální štěrby spolu se záhyby mezi výběžky vytvářejí specializované prostory, ohraničené proti tubulární tekutině spojovacími komplexy a proti peritubulární intersticiální tekutině bazální membránou. Tento labyrint je významný pro resorpci solí a vody z tubulární tekutiny. Stěna proximálního tubulu je velmi propustná pro vodu a malé ionty. Proximální tubulus je tedy dokonale uzpůsoben své funkci – tj. resorpci a sekreci. Každou minutu resorbuje jedna tubulární buňka objem tekutiny 1 až 4krát větší než je její vlastní objem. /1/

3.3.3 Henleova klička

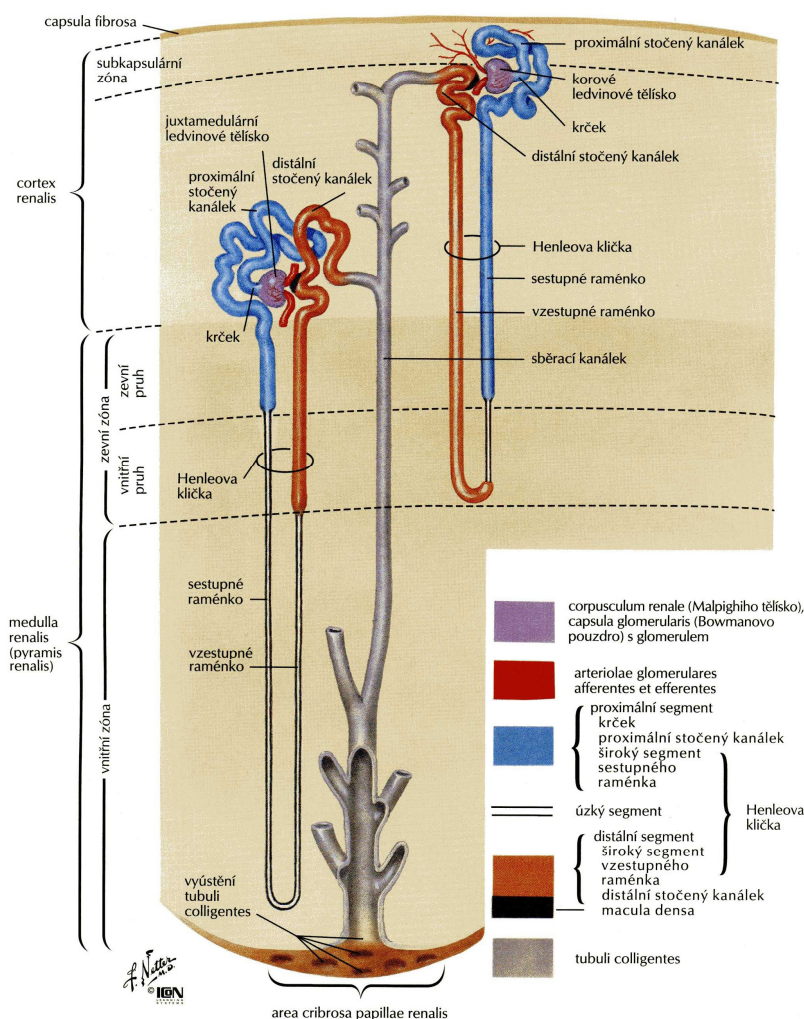
Henleova klička tvoří pokračování proximálního tubulu. Její descendtní raménko míří směrem k papile, ohýbá se a ascendtní raménko jde paralelně směrem ke kůře; klička má tedy vlásenkovitý tvar. Vrcholy jsou v různých zónách dřene, hloubka uložení závisí na umístění glomerulu příslušného nefronu. U člověka tvoří velmi dlouhé kličky jen asi 15 až 20 % nefronů. Jejich glomeruly jsou uloženy na pomezí kůry a dřene (juxtamedulární glomeruly). Delší kličky mají i nefrony, jejichž glomeruly leží ve středních vrstvách kůry. Sestupné raménko je pokračováním přímé části proximálního tubulu, která dosahuje zhruba k rozhraní zevního a vnitřního proužku zevní zóny dřene. Stěnu sestupného raménka tvoří tzv. tenký segment, který u dlouhých kliček přechází v ohbí a tvoří část raménka vzestupného. Tlustý segment začíná u dlouhých kliček zpravidla na pomezí vnitřní a vnější části dřene. Krátké kličky se ohýbají aniž dosáhly vnitřní zóny dřene a mají celé ascendtní raménko tlusté. Je pozoruhodné, že při počtu více než jednoho miliónu nefronů se vrací vzestupné raménko k cévnímu pólu vlastního glomerulu (k vas afferens a efferens); v tomto místě přechází v distální tubulus.

Tlustá ascendtní raménka mají stejné morfologické charakteristiky u dlouhých i krátkých kliček. Vysoké buňky jejich stěny mají na peritubulární straně početné výběžky obsahující značné množství velkých protáhlých mitochondrií. Výběžky sousedních buněk tvoří navzájem bohaté interdigitace. Povrch buněk obrácený do lumen je hladký nebo vybihá v ojedinělé mikrokly. Stěna dřenevé části tlustého vzestupného raménka je nepropustná pro vodu a její buňky vykazují největší aktivitu enzymu $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPázy}$ z celého nefronu, což

svědčí o vysoké intenzitě transportních procesů v této části. Je to klíčové místo mechanismu koncentrace moči. /1,3/

3.3.4 Distální nefron

Distální nefron se skládá ze 3 základních částí : distálního tubulu, spojovacího segmentu (spojovacího tubulu) a sběrného kanálku. Ve funkčním smyslu je název distální tubulus vyhrazen pro pars konvoluta, která je poměrně krátká, směřuje od kontaktního místa s cévním pólem glomerulu směrem vzhůru a tvoří kličky v blízkosti téhož glomerulu. Konec stočené části přechází v tzv. spojovací segment, který ústí do sběrného kanálku. Spojovací segment má vinutý tvar a může se spojovat se sousedními stejnými segmenty a teprve pak vústit do sběrného kanálku. Distální tubuly ústí spojovacími segmenty do sběrných kanálků (do jednoho sběrného kanálku v kůře se také sbíhá více než 8 distálních tubulů). Sběrný kanálek rozdělujeme na 3 části: korovou, v zevní dřeni a vnitřní dřeni. Segment sběrného kanálku ve vnitřní dřeni pak lze ještě z hlediska ultra struktury a funkčních odlišností (zejména propustnosti) rozdělit na 2 části, iniciální a terminální. Korový sběrací kanálek začíná jako krátká část za spojovacím segmentem, spojuje se postupně s dalšími, a nakonec jako přímý kanálek směřuje ke dřeni. Oba dřevové úseky jsou jeho pokračováním. Hluboko ve vnitřní části dřene vytvoří několik sběrných kanálků společný vývod (těch je v každé ledvině asi 250), který se vyprazdňuje do kalichu. Moč přitékající jedním tímto vývodem pochází asi z 2700 až 2800 nefronů (podle některých údajů až 4000). /1/

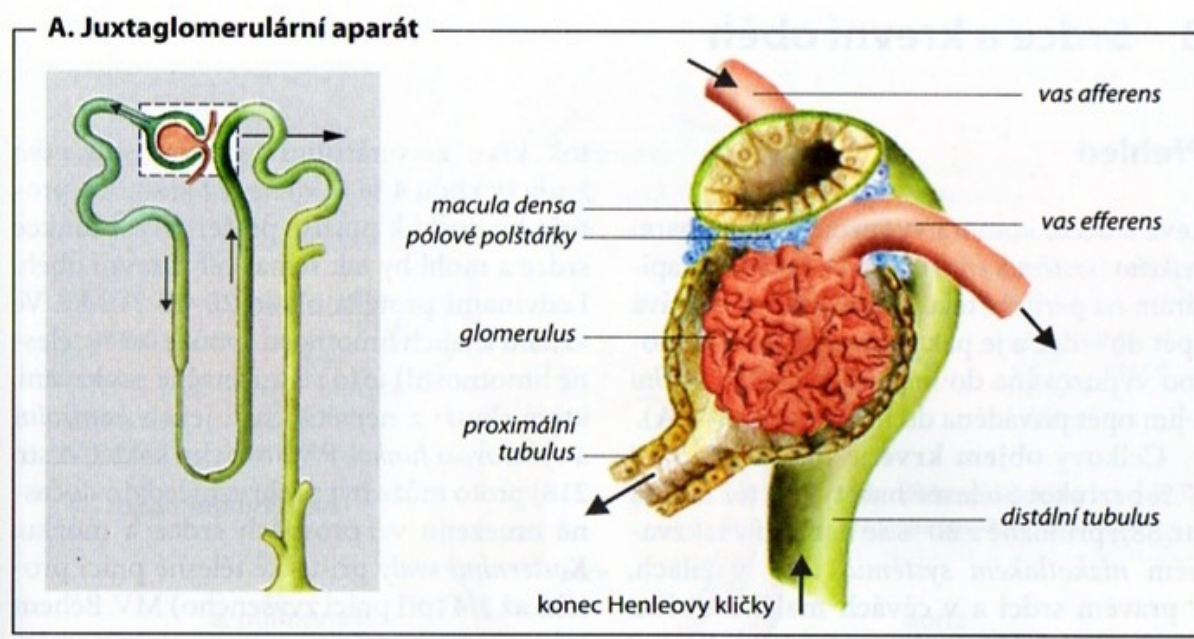


Obr.3. Nefron a sběrný kanálek /21/

3.3.5 Juxtaglomerulární aparát

Zvláštní strukturou se specializovanou funkcí je tzv. juxtaglomerulární aparát, který se skládá ze tří funkčně i morfologicky rozdílných typů buněk. K vas afferens a efferens tj. k cévnímu pólu glomerulu, se přikládá distální tubulus téhož nefronu. Je to úsek, kde končí ascendentní raménko Henleovy kličky, nebo spíše kde přechází pars recta distálního tubulu v pars konvoluta, a buňky distálního tubulu jsou zde vlastně vloženy mezi vas afferens a vas efferens. V místě kontaktu je tubulární epitel histologicky modifikován a tvoří tzv. macula densa. Štíhlé buňky macula densa mají nápadně hustá jádra, soustředěná v sousedících buňkách při bázi těsně vedle sebe. Golgiho aparát je orientován směrem k arteriolám, ne k lumen tubulu (jako je tomu u všech ostatních tubulárních epitelových buněk). To svědčí pro sekreci nějaké látky, ovlivňující další buňky juxtaglomerulárního aparátu. Epitel macula densa vykazuje ve srovnání s ostatními tubulárními buňkami slabé transportní charakteristiky. Ve střední vrstvě stěny arteriol, převážně vas afferens, jsou v místě kontaktu buňky, které se liší od obvyklé hladké svaloviny. Jsou zduřelé, naplněné tmavými sekrečními granuly a jsou v nich zachovány i kontraktilní elementy. Označují se jako juxtaglomerulární nebo též granulární buňky; jejich granula obsahují enzym renin (v neaktivní podobě), který secernují exocytózou. Všechny tři typy buněk tvoří dohromady funkční jednotku – juxtaglomerulární aparát.

Celé jeho anatomické uspořádání nasvědčuje, že složení tekutiny v distálním tubulu může prostřednictvím buněk macula densa ovlivnit arterioly, které pak mohou měnit průsvit a tím nastavovat velikost glomerulární filtrace. /1/



Obr.4. Juxtaglomerulární aparát /19/

3.3.6 Ledvinové intersticiium

Složky intersticia jsou buňky, extracelulární matrix a intersticiální tekutina. V kůře činí podíl intersticia asi 7-9 % celkového objemu tkáně, ve vnitřní dřeni 30–40 %. Intersticiium vyplňuje jako součást ledvinového parenchymu prostory okolo cév a mezi tubuly. Je všude vázáno na tubulární a vaskulární bazální membrány. Nepředstavuje pouze pasivní prostor, ale zprostředkovává a moduluje všechny výměny mezi tubulárními a cévními elementy, poskytuje jim strukturní oporu, určuje poddajnost a roztažitelnost peritubulární

mikrovaskulatury, ovlivňuje rozhodujícím způsobem růst a diferenciaci renálních parenchymových buněk a vykazuje významnou sekreční činnost, tj. produkuje různé lokální systémové hormony a cytokiny. S uspořádáním intersticia souvisí i lymfatická drenáž ledvin, která je vyvinuta pouze v kůře nikoliv ve dřeni. /1/

3.3.7 Inervace ledvin

Nervová vlákna vstupují do ledvin v hilu zároveň s cévami. Jsou to převážně postgangliová adrenergní sympatická vlákna splanchnických nervů; pregangliová pocházejí z Th₁₂ až L₂. /1/

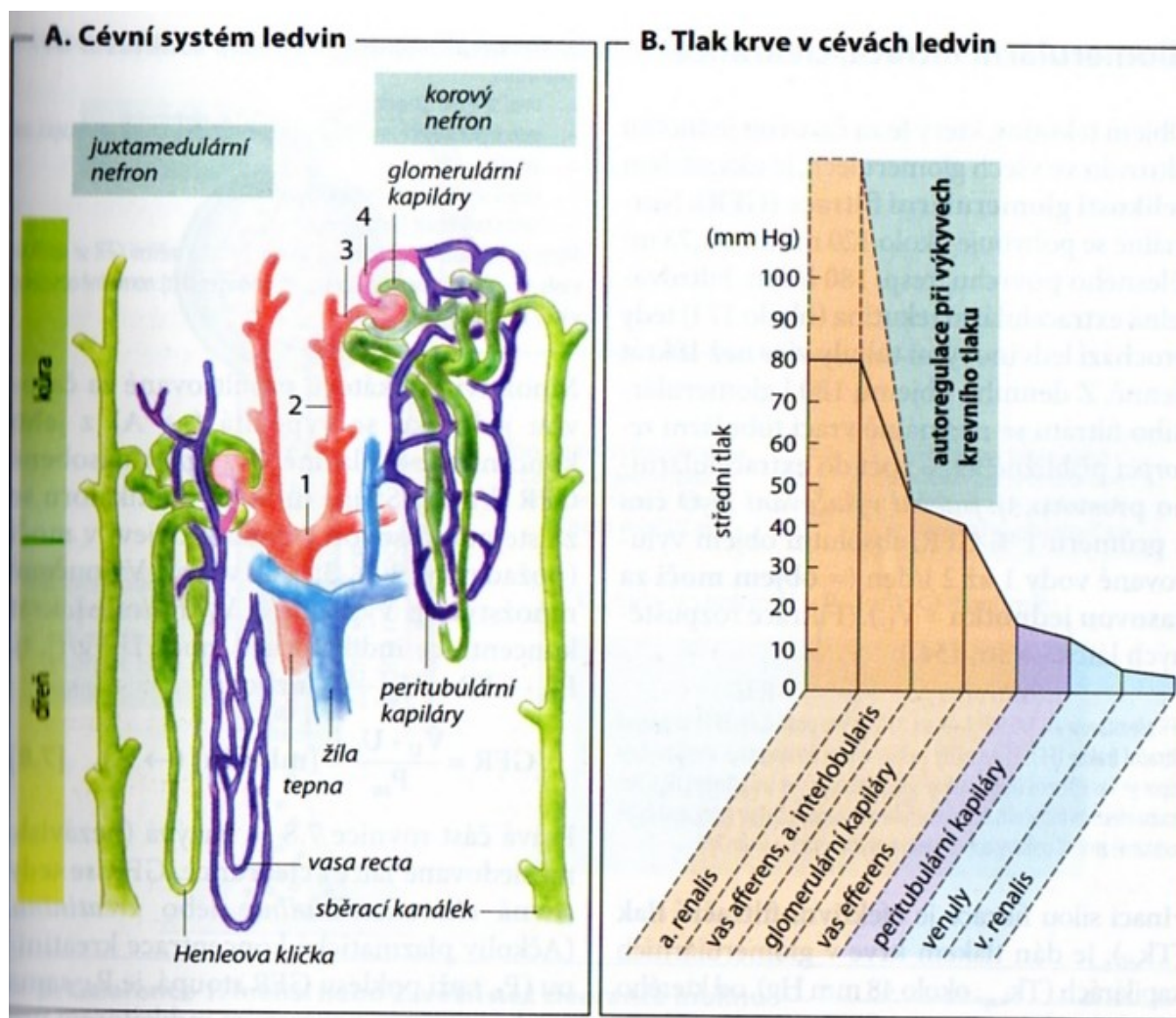
3.3.8 Krevní zásobení ledvin

Průtok krve ledvinami je neobvykle vysoký a činí 20 až 25 % klidového minutového srdečního výdaje (u 70 kg dospělého muže je to asi 1200 až 1300 ml/min a 1700 l/d). celkový objem krve 5 l tak projde ledvinovými cévami za den asi 340krát. Rozdělení krve v ledvinách je ovšem nerovnoměrné, kůrou, která představuje 70 % tkáně ledviny, protéká podstatně více krve než dřením, a to přes 90 % celkového průtoku. Celkové zásobení ledvin krví převyšuje zásobení tak bohatě vaskularizovaných orgánů jako jsou játra, mozek, myokard apod, ledviny spotřebují za minutu asi 18 ml O₂. Největší spotřebu O₂ má kůra, kde probíhá maximum aktivních transportních procesů; 75 – 85 % spotřeby O₂ v ledvinách připadá na aktivní resorpci iontů a jiných solutů, hlavně Na⁺. Protože glomerulární filtrace je fyzikální proces, který závisí na tlaku krve a ten je uhrazen prací srdce, připadá spotřeba energie právě na činnost tubulů. Velký průtok krve ledvinami a celé uspořádání ledvinových cév slouží především jejich funkci, tj. tvorbě moči, a tedy úloze ledvin v udržování stálého množství a složení tělesných tekutin. Regionální rozdíly prokrvení odrážejí funkční požadavky jednotlivých částí ledvin: velký korový průtok je nezbytný pro glomerulární filtraci a zpětnou resorpci solutů a vody, zejména v proximálním tubulu; malý průtok dřeni hraje důležitou úlohu při koncentrování moči. Tím se ledvina zásadně liší od ostatních orgánů, v nichž krevní zásobení slouží nárokům tkáně na přívod O₂. V ostatních orgánech se proto výrazněji mění arterio venózní difference podle úrovně metabolismu. Krev přitéká do ledvin poměrně krátkou a širokou větví břišní aorty, a. renalis, která se před vstupem do ledviny dělí na 5 segmentálních větví. Uvnitř ledviny pak probíhají mezi pyramidami paprskovitě směrem ke kůře aa. interlobares, která se na rozhraní dřene a kůry horizontálně stáčí a vytvářejí arkádovité aa. arcuatae, z nichž běží kůrou směrem k povrchu aa. interlobulares. Z nich odstupují krátké přívodné arterioly ke glomerulům – vasa afferentia. Vasa efferentia vystupující z glomerulu odvádějí krev z ultra filtrujícího primárního kapilárního řečiště a přecházejí v resorbující sekundární kapilární řečiště, peritubulární kapiláry. Způsob a směr větvení eferentních arterioli je odlišný podle typu (uložení) glomerulu. Užší vasa eferentia glomerulů z povrchních a středních částí kůry, tj. většina, přechází v peritubulární kapilární síť která opřádá blízké tubuly a má velký význam pro resorpci látek z tubulární tekutiny a pro tubulární sekreci. Venuly z peritubulárních kapilár se sbírají do interlobulárních ven a dále už je uspořádání venózní cirkulace analogické arteriální.

Krev tedy protéká v ledvinách dvakrát kapilárami, tj. glomerulem a pak peritubulární sítí aniž mezi tím prošla srdcem. Odporové cévy a kapiláry jsou dvakrát v sérii za sebou a glomerulární kapiláry jsou jediné kapiláry v těle, z nichž odtéká krev arterioly.

Zvláštnosti průtoku krve dřeni: eferentní arterioly hluboko v kůře uložených juxtamedulárních glomerulů jsou širší a napojují se jen z menší části na korovou kapilární síť. Z větší části vstupují do dřene a dávají vznik dreňovému cévnímu systému. Z toho vyplývá, že krevní zásobení dřene pochází výhradně z kůry a je odvozeno od vasa efferentia juxtamedulárních glomerulů. V zevním proužku zevní zóny dřene se tyto eferentní arterioly větví a vzniká velký počet sestupných ramének vasa recta (z jedné vasa efferens asi 30).

Z kapilárních pletení se sbírají ascendentní raménka vasa recta, která se strukturně neliší od kapilár a vystupují paralelně se sestupnými k rozhraní mezi dřením a kůrou. Zde se navzájem spojují v ústí do žil (z části do interlobulárních, hlavně do vv.arcuatea). Zvláštností dřeňových kapilár je jejich délka. Zatím co jinde v těle jsou kapiláry dlouhé okolo 0,5 mm i méně, zde měří neobvyklých několik cm, a paralelní průběh sestupných a vzestupných ramének těsně vedle sebe představuje relativně dlouhý kontaktní úsek, na němž se uplatňují horizontální koncentrační rozdíly pro všechny difuzibilní látky. Vasa recta mají tedy stejný průběh a v zásadě stejný tvar jako Henleovy kličky a významným způsobem se uplatňují při ledvinovém koncentračním protiproudovém mechanismu. Ledviny mohou neefektivněji plnit své funkce v udržování homeostázy tělesných tekutin, když průtok krve ledvinami a tlak v glomerulárních kapilárách zůstávají relativně konstantní. Průtok krve ledvinami je relativně nezávislý na tlaku krve v aortě a v rozmezí jeho změn od 80 do 180 mm Hg se udržuje na poměrně stálé hodnotě. Klesne-li tlak v aortě pod 80 mm Hg, průtok krve ledvinami se zmenšuje paralelně s poklesem tlaku, stoupne-li nad 180 mm Hg, průtok krve se zvětšuje. Udržení průtoku krve ledvinami na poměrně konstantní hodnotě se nazývá autoregulace. Může být definována jako schopnost ledvin měnit svůj vlastní cévní odpor v odpověď na změny systémového arteriálního tlaku s cílem udržet stálý průtok krve a velikost glomerulární filtrace. /1/



Obr.5. Cévní systém ledvin 1.- a.arcuatae 2.- vasa afferentia 3.- vas afferens 4.- vas efferens /19/

3.3.9 Renální autoregulace

Renální autoregulace se vysvětluje v zásadě dvěma mechanismy:

1. Myogenní efekt se zakládá na skutečnosti, že hladká svalovina ve stěně artérie odpovídá na zvýšení transmulárního tlaku resp. zvýšené napínání cévní stěny při vzestupu středního arteriálního tlaku kontrakcí (Baylissův efekt). Nastane vazokonstrikce a patřičně stoupne cévní odpor. Je to přímá reakce hladké svaloviny, při níž se neuplatňují nervové vlivy. Tato myogenní reakce je podle všeho hlavním mechanismem autoregulace, o čemž svědčí skutečnost, že ji lze vyřadit pomocí látek relaxujících hladké svaly cév.

2. Druhým mechanismem, který přichází v úvahu, je tubulo-glomerulární zpětná vazba. Jeho princip je založen na vztahu mezi složením tekutiny, která přitéká do distálního tubulu, a následným ovlivněním průsvitu aferentní arterioly.

3. Třetí mechanismus, resp. skupinu mechanismů přispívajících k regulaci průtoku krve ledvinami můžeme označit faktory extrarenální. Za normálních okolností je mechanismus renální autoregulace nadřazen nervovým stimulům, ale velmi silné zvýšení aktivity sympatiku vede k vazokonstrikci i v ledvinách a tím i ke značnému poklesu průtoku krve. Sympatická vazokonstrikce může být součástí celkové odpovědi na vlivy z CNS při různých stresových situacích. Na průtok krve ledvinami dále působí celá řada vazoaktivních hormonů.

Závěrem můžeme o průtoku krve ledvinami říci, že musí být autoregulován, aby byly minimalizovány účinky kolísání systémového arteriálního tlaku. /1/

3.3.10 Glomerulární filtrace

Glomerulární filtrace je prvním dějem v procesu tvorby moči. Závisí na tlaku a průtoku krve ledvinami. Jejími bezprostředními determinantami jsou filtrační tlak (tlakový gradient napříč filtrační bariérou), permeabilita filtru a plocha, na níž filtrace probíhá.

Hodnoty tlaku v ledvinových kapilárách nasvědčují, že glomerulární kapiláry jsou vysokotlaké řečiště, peritubulární nízkotlaké. Vysoký tlak v glomerulární pleteni umožňuje filtraci tekutiny ven z krve (podobné jako na arteriálním konci normální kapiláry). Nízký tlak v peritubulárním řečišti pak umožňuje obdobný děj, jaký probíhá na venózním konci kapiláry, tj. přestup tekutiny z intersticia do kapilár. /1/

3.3.11 Glomerulární filtr

Je komplexní struktura, složená s vysoce diferencovaného kapilárního endotelu, specializované glomerulární bazální membrány a z vrstvy podocytů, která není kontinuální, ale sestává s navzájem propletených prstovitých výběžků které pokrývají bazální membránu. Štěrbiny mezi výběžky jsou uzavřené jednoduchou tenkou membránou. Permeabilita každé z vrstev je mnohem větší, než je obvyklé u kapilár v ostatních orgánech, a proto se vytvoří tak velký objem glomerulárního filtrátu.

Kapilární endotel s velkými otevřenými póry představuje poměrně hrubý filtr, jímž samozřejmě neprocházejí žádné formované elementy krve, který však není překážkou pro většinu bílkovin plazmy. Bazální membrána je hlavní síto pro makromolekuly, avšak přesný stupeň jímž přispívá k permeabilitě glomerulárního filtru, není stále s definitivní platností stanoven. Podle obecně přijímaného názoru jsou pro propustnost glomerulárního filtru rozhodující skuliny mezi výběžky podocytů; tyto filtrační štěrbiny jsou sice rovněž poměrně velké (okolo 25 nm) ale jsou vinuté a jsou vyplněny hydratovanými polysacharidy, takže vzniká jakýsi glykokalyx, který zabraňuje prostupu větších molekul. Celá filtrační bariéra dohromady se chová jako filtr, jímž volně prostupují látky s molekulou do 4 nm (molekulová hmotnost pod 5000), za fyziologických okolností vůbec neprocházejí molekuly větší než 8 nm (m.h. nad 69000). Molekuly, jejichž rozměry se pohybují mezi těmito hodnotami, prostupují v závislosti na svém rozměru, tvaru a náboji.

Z hlediska tvaru procházejí hůře vláknité molekuly než globulární proteiny. Rozměr (molekulová hmotnost) zabraňuje projít filtrem globulinům a fibrinogenu, teoreticky by se mohly filtrovat albuminy. Ovšem zde přichází v úvahu náboj filtrovaných částic. Bazální membrána (a i výběžky podocytů) je lemovaná polyanionickými komplexy glykoproteinů se silným negativním elektrickým nábojem (díky kyselině sialové), který provádí selektivní kontrolu filtrace. Negativně nabitě částice plazmy jsou odpuzovány; protože plazmatické bílkoviny mají negativní náboj, profiltruje se méně než 1 % albuminů, ačkoliv měří jen 7,2 nm (m.h. 69000), ale i ty se resorbují. Složení glomerulárního filtrátu je ovlivněno i Donnanovou rovnováhou.

Všechny takto vzniklé rozdíly jsou však malé a pro praktické účely je lze opomenout. Proto lze říci, že složení glomerulárního filtrátu je víceméně stejné jako plazmy bez bílkovin (přičemž ovšem je třeba brát v úvahu, že některé filtrační látky včetně mnoha látek tělu cizích jsou v plazmě v různé míře vázány na bílkoviny). Hlavním faktorem, který rozhoduje o glomerulární filtraci, je filtrační tlak. Hybnou silou, tj. energii potřebnou k filtraci, poskytuje srdce. Je to tlak krve (hydrostatický tlak), který vypuzuje tekutinu ven z kapiláry a je vyšší, než v ostatních kapilárách v těle. Důvodem tohoto rozdílu je jednak skutečnost, že tepenné řečiště od břišní aorty po glomerulus je krátké a vas afferens je krátká přímá větev interlobulární artérie. Uvádí se, že v aa. arcuatae je tlak okolo 100 mm Hg a prakticky až po vas afferens téměř neklesá. Dále je to fakt, který byl již zdůrazněn, že vas efferens je užší a má tedy poměrně značný odpor. Hodnoty tlaku krve v glomerulárních kapilárách, které se odvozují pro lidskou ledvinu, činí okolo 45 až 50 mm Hg, někteří autoři však uvádějí i 55-65 mm Hg. Obvyklý hydrostatický tlak na začátku kapilár v ostatních orgánech se pohybuje okolo 30 mm Hg.

Proti tlaku v glomerulárních kapilárách působí onkologický tlak plazmatických bílkovin, který činí 25-30 mm Hg; k němu ovšem musíme přičíst i hydrostatický tlak v Bowmanově pouzdře (asi 10 mm Hg).

Bowmanovo pouzdro je naplněno ultrafiltrátem, který do něj nepřetržitě proniká a kontinuálně z něj odtéká do proximálního tubulu. Tato síla ovšem nepůsobí po celé délce glomerulárních kapilár. Protože se z plazmy, protékající glomerulárními kapilárami, odfiltrává ultrafiltrát, tj. tekutina bez bílkovin, stoupá v plazmě relativní koncentrace plazmatických bílkovin; tím stoupá onkotický tlak a dosahuje na konci kapilár hodnoty asi 35 mm Hg. Filtrace proto postupně klesá prakticky až k nule patrně ještě před dokončením průtoku celou kapilárou. Jestliže budeme považovat za střední hodnotu onkotického tlaku 29 mm Hg, můžeme říci, že efektivní filtrační tlak činí 11 mmHg. To je hnací síla pro proces filtrace, která především rozhoduje o množství glomerulárního filtrátu.

Třetím faktorem, na němž závisí velikost glomerulární filtrace, je plocha, na níž se filtrace děje a která je jednou z determinant ultrafiltračního koeficientu. Celková plocha glomerulárních kapilár obnáší asi 1,5 m² a její velikost je modifikována vazoaktivními peptidy a jinými účinnými látkami. Jestliže se provede rozbor, jak je jednotlivých faktorů na nichž závisí glomerulární filtrace fyziologicky využito, lze dojít k těmto závěrům: za normálních okolností se u zdravého člověka permeabilita glomerulární membrány mění nejspíše málo. Filtrační plocha se ve větším rozsahu zřejmě rovněž nemění. Obsah plazmatických bílkovin je stálý a více méně se nemění ani hydrostatický tlak v Bowmanově pouzdře. Jedinou skutečně proměnlivou hodnotou je tlak krve v glomerulárních kapilárách. Proti jeho výkyvům v poměrně značném rozmezí jsou však ledviny autoregulačně zajištěny, stálý glomerulární intrakapilární tlak je zabezpečován souhrou činností vas afferens a efferens. Odpor ve vas afferens a efferens se mění ve vzájemné závislosti. Vedle jednoduché myogenní reakce ovlivňují průsvit aferentních a eferentních arteriol další faktory: obě mají sympatickou inervaci a jsou schopny reagovat na katecholaminy vazokonstrikcí; více se však zužuje vas efferens. V ledvinách byly prokázány i dopaminergní neurony: dopamin má

vazodilatační účinek a rozšiřuje vas afferens i efferens. Výsledný efekt pak závisí na poměru aktivity dopaminergních a adrenergních receptorů. Vedle nerstva ovlivňuje renální vaskulaturu celá řada hormonů, autakoidů a farmak.

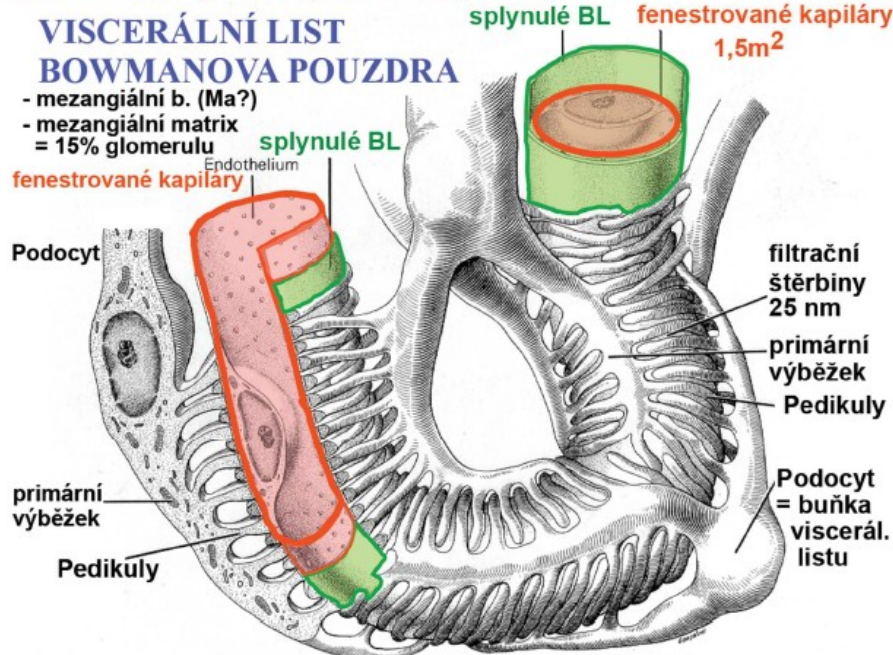
Angiotenzin II působí vazokonstrikci, především vas efferens. Endotelin způsobuje konstrikci obou arteriol, více vas efferens. Atriální natriuretický peptid zvyšuje glomerulární filtraci dilatací vas efferens. Tu mírně rozšiřuje i bradykinin. Vazodilatačně působí i acetylcholin a histamin. Glomerulární filtraci podporují i glukokortikoidy. NO (oxid dusnatý) je silným vazodilatátorem. Souhrně lze uzavřít, že jednotlivé faktory nepůsobí na glomerulární arterioly izolovaně, ale že jde prakticky vždy o souhru více vazoaktivních činitelů.

Velikost glomerulární filtrace je upravována i na principu zpětné vazby. Předpokládá se, že každý jednotlivý nefron má svůj zpětnovazebný mechanismus. Hovoříme o tubulo-glomerulární zpětné vazbě.

Glomerulární filtrace však přece jen není za fyziologických okolností absolutně konstantní. Klesá v noci ve spánku (o 30 %) při větší fyzické námaze, při změně polohy těla z horizontální do vertikální a účinek nepříjemných emocí, zejména na bolesti. Naopak stoupá v těhotenství. Mění se také s dietou, značně se zvětšuje při vysokém obsahu bílkovin v potravě.

Množství glomerulárního filtrátu činí u mužů 120 až 125 ml/min. Tato hodnota vykazuje určité věkové odchylky: v raném postnatálním období je podstatně nižší, činí asi 1/5 hodnot u dospělých, jichž dosahuje koncem 1. roku života. Pak se udržuje stálá a klesá až ve stáří. Funkce mesangiálních buněk jsou v přehledu tyto: 1. strukturní opora, 2. modulační ultrafiltračního koeficientu, 3. fagocytóza makromolekul, a 4. sekrece hormonů, cytokinů, růstových faktorů a jiných působků a složek extracelulární matrix. /1,3/

Uspořádání podocytů a kapiláry v renálním tělísku



Obr.6. Uspořádání podocytů a kapiláry v renálním tělísku /20/

3.3.12 Činnost tubulů

Většina látek, obsažených v glomerulárním filtrátu, se ve větší či menší míře resorbuje v tubulech, tj. jsou transportovány tubulárními buňkami do peritubulární extracelulární tekutiny a odtud se dostávají do krve peritubulárních kapilár. Je to hlavně tato resorpce, která určuje konečné složení moči. **Resorpce je životně důležitá pro látky, které mají být vráceny zpět do organismu**, tj. vodu a esenciální soluty, a pro jejich oddělení od látek, které mají být vyloučeny. Naopak sekrece má speciální význam zejména pro vylučování draslíku a vodíkových iontů. Tubulární transport je v různých částech nefronu různý. V určitém úseku se týká jen některých látek, někdy se stejná látka chová v různých oddílech odlišně. V proximálním tubulu se normálně resorbují $\frac{3}{4}$ (65-75 %) vody glomerulárního filtrátu. Tato resorpce probíhá vždy, a to bez ohledu na stav hospodaření vodou. Proto bývala nazývána obligátní (na rozdíl od fakultativní v distálním tubulu). Protože tekutina na konci proximálního tubulu je izoosmotická s krevní plazmou, je pochopitelné, že se resorbovalo ekvivalentní množství hlavních osmoticky aktivních součástí filtrátu, především sodíku, který musí být k udržení elektroneutrality provázen aniony (Cl^- , HCO_3^-).

Současně se zde vstřebává veškerá profiltrovaná glukóza a rozhodující množství dalších profiltrovaných organických látek, ale K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , HPO_4^{2-} atd. proximální tubulus hraje nejdůležitější úlohu při kvantitativní resorpci glomerulárního filtrátu, a tím při udržování rovnováhy vody a solutů v těle. U dospělého člověka se v proximálním tubulu resorbuje okolo 140 l tekutiny za den. Výsledkem činnosti proximálního tubulu je skutečnost, že do Henleovy kličky vstupuje okolo 20-25 % tekutiny původního glomerulárního filtrátu, která je izotonická s krevní plazmou. V Henleově kličce se resorbuje 15-20 % filtrátu. Množství tubulární tekutiny se zde dále redukuje na asi 5 % původního glomerulárního filtrátu; i tato tekutina je izoosmotická s krevní plazmou. Ze všech iontů v organismu je nejvíce sodíku. Je hlavním kationem extracelulární tekutiny a $\frac{4}{5}$ rozpuštěných látek jsou jeho soli. Proto má transport sodíku v činnosti tubulárního systému ledvin mimořádné postavení. Představuje kvantitativně největší složku transportní činnosti tubulů a závisí na něm resorpce (a i sekrece) dalších iontů, organických látek a vody. Aktivní resorpce sodíku v proximálním tubulu probíhá dvěma mechanismy: kotransportem a protitransportem. Pasivní transport hnaný tokem chloridů je třetí způsob resorpce sodíku. V glomerulech se denně volně profiltrují velká množství (okolo 4320 mmol) hydrogenuhlíčitanových anionů. Ztráta kterých by znamenala katastrofální acidózu a rozvrat vnitřního prostředí organismu. Proto jednou z hlavních funkcí savčí ledviny je resorbovat téměř všechny filtrovaný hydrogenuhličitan. Celkem se v intrarenálních cestách resorbuje okolo 99 % filtrovaného NaCl. Resorpce je tedy produktem onkotického tlaku a permeability a spočívá v kontinuálním přestupu velkého množství tekutiny z intersticia do peritubulárních kapilár. Existuje však vztah mezi velikostí glomerulární filtrace a tubulární resorpce, tzv. glomerulo-tubulární rovnováha. Její princip spočívá v tom, že se v proximálním tubulu resorbují vždy $\frac{3}{4}$ glomerulárního filtrátu. Vzestup glomerulární filtrace je následován paralelním zvýšením resorpce, klesne-li filtrace, resorbuje se filtrátu úměrně méně. Jinak řečeno, tubulární resorpce není pravidelná v čase, ale je proporcionální glomerulární filtraci. Význam tohoto vztahu vyplyne uvědomíme-li si, že při poklesu filtrace a neměnné resorpci by se filtrát vstřebal všechny a nastala by anurie, a naopak při velké filtraci a neměnné resorpci by odtékal do Henleovy kličky a distálního nefronu značný přebytek tekutiny, diuréza by se nepřiměřeně zvětšila a docházelo by ke ztrátám látek nezbytných pro organismus.

Jestliže zhodnotíme resorpci tekutiny podél celého nefronu za běžných okolností, dostaneme čísla, která vypovídají o resorpční kapacitě jeho jednotlivých oddílů. V proximálním tubulu je to průměrně 65 % glomerulárního filtrátu, v Henleově kličce 15 %, v distálním tubulu 10 % a ve sběracím kanálku celkem přes 9 %. Do moči se dostává okolo 0,6-0,8 % vody původního glomerulárního filtrátu. V absolutních číslech přitéká při

glomerulární filtraci 125 ml/min, každou minutu do Henleových kliček 45 ml tekutiny (to znamená, že se 80ml/min v proximálních tubulech zresorbovalo), do distálních tubulů 25 ml, do sběracích kanálků 12 ml a do moči okolo 1ml/min. Draslík je hlavním intracelulárním kationem a v extracelulární tekutině je jeho hladina nízká, nicméně je velmi citlivě regulována. I malé změny kalémie mohou podstatně ovlivnit funkci myokardu, kosterních svalů a nervových vláken, větší výkyvy nejsou slučitelné se životem. Zdrojem draslíku je potrava a jediným orgánem, schopným vylučovat proměnlivé množství K^+ a vyrovnávat tak disproporce v jeho příjmu, jsou ledviny.

Lidské ledviny mají schopnost redukovat koncentraci draslíku v moči pod hodnotu jeho koncentrace v plazmě. Draslík zaujímá v ledvinách zvláštní postavení tím, že je i resorbován i secernován a tedy podléhá oboustrannému transportu. V proximálním tubulu se zresorbuje asi 65 % filtrovaného draslíku. Za normálních okolností a zejména při nadbytku draslíku převažuje jeho sekrece, která nastává v korové části sběracího kanálku a je hlavním mechanismem udržování draslíkové rovnováhy v organismu.

Z hlediska přívodu draslíku potravou platí, že dietní omezení či úplná zástava přívodu kalia vede k promptnímu a dramatickému poklesu jeho obsahu v moči. Naopak, zvýšený přívod potravou zvyšuje exkreci draslíku močí. Hlavním regulátorem vylučování kalia močí je aldosteron, který stimuluje resorpci sodíku a vylučování draslíku. Více než 99 % vápníku je v kostech a jen necelé 1 % je v extracelulární tekutině. Udržování extracelulární homeostázy kalcia spočívá v koordinaci resorpce Ca^{2+} ve střevě, jeho uvolňování z kostí a resorpce v ledvinách. Hladina vápníku v plazmě je přísně regulována a udržována v úzkém rozmezí okolo hodnoty 2,5 mmol/l. Asi 35-40 % plazmatického kalcia je ve vazbě na makromolekulární bílkoviny a nemůže být filtrováno v glomerulech. Z 60-65 % filtrovaného vápníku je převážná většina iontů Ca^{2+} , ale asi 10 % jsou nedisociované soli (hydrogenkarbonáty, sulfáty, fosfáty, citráty). Resorpce Ca^{2+} v ledvinách hraje v homeostáze kalcia stěžejní úlohu. Za normálních okolností se v intrarenálních cestách resorbuje 97-98 % filtrovaného vápníku. Transport Ca^{2+} probíhá v celém nefronu, ale rozhodující je resorpce v jeho distální části.

Řízení vylučování fosfátů močí obstarává především parathormon, který inhibuje jejich resorpci a zvyšuje jejich vylučování močí. Transport fosfátů reaguje na změny extracelulárního pH: acidóza transport tlumí, alkalóza zvyšuje. Lze říci, že většina lidí přijímá v potravě (mléko, mléčné výrobky, maso) poměrně hodně fosfátů, takže kapacita pro jejich resorpci v ledvinách je překračována a přebytky jsou vylučovány močí. Sulfáty jsou transportovány podobně jako fosfáty v kotransportu s Na^+ v proximálním tubulu. Resorpce sulfátů je omezená a tím se udržuje v extracelulární tekutině jejich nízká koncentrace.

Transport organických látek se především týká glukózy a aminokyselin. Obojí, glukóza i aminokyseliny, se dobře filtrují a přecházejí do glomerulárního filtrátu prakticky ve zcela stejné koncentraci, jakou mají v krevní plazmě.

Glukóza patří mezi tzv. prahové látky, to znamená, že je sice v ledvinách za normálních okolností úplně resorbována a neobjevuje se v moči, ale jestliže se její hladina v krvi a tedy i glomerulárním filtrátu zvýší nad určitou hodnotu (práh), začne se vylučovat. Jako renální práh pro glukózu můžeme definovat její koncentraci v plazmě, kdy se prvně objeví v moči. Mezi prahové látky patří také aminokyseliny, fosfáty a sulfáty. Práh pro glukózu je podstatně vyšší než je normální glykémie; z toho vyplývá, že po požití potravy nenastává alimentární glykosurie a nehrozí nebezpečí ztrát glukózy z organismu. Ledviny jsou schopny nadbytečné množství glukózy až do určité hranice konzervovat.

Resorpce glukózy probíhá téměř úplně ve stočené části proximálního tubulu, kde je kapacita pro její transport největší. Do pars recta přitéká asi 2 % filtrovaného množství glukózy, která se zde ještě resorbuje, takže v tekutině odtékající z proximálního tubulu není obsažena za normálních podmínek žádná glukóza.

Aminokyseliny patří mezi nutričně hodnotné látky a organismus si nemůže dovolit je ztratit. Jejich resorpce v ledvinách je při jejich normální hladině v krevní plazmě a tedy v glomerulárním filtrátu velmi vydatná. Prakticky všechny přirozeně se vyskytující aminokyseliny se u člověka a savců při průchodu tekutiny tubuly resorbují a vrátí do krve.

U člověka tvoří výjimku glycin, histidin a taurin, kterých se resorbuje méně a objevují se v moči. Transport aminokyselin se uskutečňuje, tak jako u glukózy, v proximálním tubulu, především v jeho stočené části. Když se jich filtruje více, mohou se resorbovat i v Henleově kličce. Tm aminokyselin činí 1,5 mmol/min.

Kromě aminokyselin se v glomerulech profiltrují i malé peptidy. U člověka se za den profiltruje několik set miligramů bílkovin o nízké molekulové hmotnosti. Tělo ovšem nemůže tyto bílkoviny ztratit a resorbuje je endocytózou.

Z látek pro organismus významných se v tubulech resorbují ve vodě rozpustné vitamíny, zejména kyselina askorbová; z ostatních látek podléhá resorpci různého stupně kreatin, laktát, sukcinát, ketolátky, nitráty, citrát a jiné. Zvláštní postavení v ledvinách má pohyb močoviny. Močovina je konečná zplodina metabolismu bílkovin u člověka a většiny obratlovců.

Konečné vylučování močoviny závisí na stupni diurézy; při antidiuréze se močovina spolu s vodou resorbuje, kdežto při vodní diuréze odpadá distální resorpce vody a většina močoviny se vyloučí. Ledviny mají schopnost zkoncentrovat ureu v moči ve srovnání s plazmou asi 65krát. Další organickou látkou vylučovanou močí je kyselina močová, konečný produkt metabolismu purinů. Její podíl na vylučování dusíku činí jen asi 5 %, ale je klinicky významná v souvislosti s tvorbou močových kamenů a onemocněním dnou.

O resorpci látek v ledvinách můžeme souhrnně říci, že z původního glomerulárního filtrátu se v intrarenálních cestách vstřebá za normálních podmínek přes 99 % vody, všechna glukóza, aminokyseliny, askorbová kyselina, kreatin, téměř všechny ionty HCO_3^- (při obvykle kyselé reakci moři), 98-99 % Na^+ , asi 95 % Ca^{2+} a Cl^- , okolo 90 % K^+ , více než 80 % HPO_4^{2-} , okolo 20 % SO_4^{2-} , asi 40 % močoviny a 80 % kyseliny močové.

Tubulární sekrece je analogický proces jako resorpce, ale probíhá opačným směrem. Tubulární sekrece se týká hlavně organických kyselin jako je kyselina paraaminohippurová a její deriváty. Tubulární sekrecí jsou vylučovány i glukuronidy a sulfáty. Tím se organismus zbavuje cizorodých a jiných látek, které byly v játrech konjugovány s kyselinou glukuronovou nebo sírovou. Obecně lze říci, že se čistá sekrece týká hlavně látek těla cizích, kterých se tak organismus díky ledvinám účinně zbavuje, čili její biologický smysl je v co nejvydatnější eliminaci některých látek z organismu. /1/

3.4 Procesy v dření ledvin a konečná úprava moči

Hlavní charakteristikou renálních homeostatických mechanismů je udržení stálé osmolality tělesných tekutin, a to i přes různé podmínky příjmu a výdeje vody a solí. To vyžaduje, aby savčí distální nefron oddělil resorpci vody a solí a vytvořil podmínky pro hypertonicitu vylučované moči. Množství a osmolalita moči se u člověka mění v určitém, dosti značném rozmezí. Posuzujeme-li měrnou hmotnost moči, pohybují se číselné hodnoty mezi 1001 až 1040. S tím souvisí i množství vyloučené moči, které u dospělého člověka kolísá při běžném příjmu tekutin v dosti širokém rozmezí okolo průměru 1 až 1,5 litru za den. Mezní hodnoty jsou za fyziologických podmínek 500 ml při minimální diuréze, maximální diuréza činí až 20 litru za den. Uvedená čísla svědčí o široké schopnosti ledviny ředit a koncentrovat moč. Uvědomíme-li si, že z distálního tubulu odtéká tekutina většinou hypotonická až izotonická, vyplývá z toho fakt logický závěr, že koncentrační mechanismus je lokalizován v ledvinové dření. Zatímco prostředí v kůře ledvin je izotonické, dřeň je hypertonická.

Celý proces vzniku hyper- a hypotonické moči při nepřetržité činnosti Henleovy kličky a osmotickém dřeňovém gradientu závisí na propustnosti terminálních částí nefronu pro vodu. Tekutina, která opouští vzestupné raménko Henleovy kličky nepropustné pro vodu a přitéká do distálního tubulu, je hypotonická. Jestliže se má organismus zbavit přebytečné vody, pak stačí, aby tato hypotonická tekutina protekla bez resorpce vody distálním neuronem do vývodných cest močových. Toto se skutečně děje, a to díky nízké sekreci až úplné nepřítomnosti vazopresinu (antidiuretického hormonu). Stěna sběrného kanálku zůstane bez vazopresinu téměř nepropustná pro vodu, takže se nemůže uplatnit sací účinek hypertonického dřeňového intersticia. Naopak, má-li organismus vody nedostatek a osmolalita vnitřního prostředí stoupá, stimuluje se sekrece a uvolňování vazopresinu. Hormon zvýší propustnost stěny sběracího kanálku pro vodu a hypotonická tekutina, která přitekla z distálního tubulu, ztrácí rychle vodu. Je to tedy sběrací kanálek, který zaujímá svrchované místo v regulaci vylučování moči, resp. v regulaci vodní a elektrolytové bilance. Rozdíl mezi tvorbou hypo a hypertonické moči je dán rozdílnou permeabilitou stěny sběrného kanálku pro vodu. Při normální smíšené stravě musí ledviny denně vyloučit okolo 1200 mosmolů různých látek, které je třeba z těla eliminovat. Kdyby byla moč izotonická, byly by k tomu potřebné 4 litry vody. Vylučováním 1 až 1,5 litru koncentrované moči se zachrání tělu 2,5 až 3 litry vody. /1,2/

3.5 Úloha ledvin při homeostáze vnitřního prostředí

Ledviny jsou jediným orgánem, který je schopen vylučovat proměnlivé množství vody i elektrolytů podle potřeb organismu, zbavovat jej přebytků nebo naopak šetřit jednu nebo druhou složku, na níž závisí osmotické a objemové poměry vnitřního prostředí a vyrovnávat disproporce v příjmu i ztrátách, které se dějí jinými cestami než ledvinami. Objem a distribuce tělesných tekutin jsou ultimativně určeny množstvím vody a sodíku v těle.

Vazopresin (ADH) je peptidový hormon (8aminokyselin), syntezovaný spolu se svými nosičovými proteiny uvnitř perikarya magnocelulárních neuronů jader předního hypotalamu, především nukleus supraopticus. Během transportu axonem probíhá oddělování hormonu od prekurzoru. Vazopresin se dostává krví do ledvin, kde jsou pro něj na bazolaterální membráně buněk sběracího kanálku specifické receptory a aktivuje transdukcí signálu (stimulací adenylátcyklázy). Během několika minut zvýší do té doby nápadně nízkou permeabilitu pro vodu vřazením vodních kanálů do apikální membrány. V nepřítomnosti vazopresinu jsou kanály od membrány oddáleny. Když stimulace vazopresinem ustane, vezikuly jsou endocytózou od membrány opět oddáleny a permeabilita pro H_2O se vrátí k výchozí nízké úrovni. Nejcitlivější na vazopresin je terminální úsek sběracího kanálku ve vnitřní dřeň. Řízení sekrece vazopresinu se zakládá na změnách osmolality a objemu extracelulární tekutiny. Na zvýšení osmolality ECT reagují osmoreceptory lokalizované v předním hypotalamu. Vazopresin zvýší permeabilitu sběracího kanálku pro vodu, ta se resorbuje a zadrží v těle, vnitřní prostředí se zředí a osmolalita klesne. Kromě nejznámějšího efektu na zvýšení permeability pro vodu, má vazopresin ještě řadu dalších účinků, které byly prokázány až v posledních letech a většinou souvisejí s mechanismy zprostředkovávajícími antidiuretický efekt. Je to především zvýšení permeability pro močovinu. Vazopresin stimuluje transport $NaCl$. Resorpce vody v ledvinách a její zadržení v organismu díky vazopresinu však nemusí být pro vyrovnání jejího deficitu postačující. Pro doplnění vody se musí aktivovat pocit žízně. Žízeň můžeme definovat jako „vědomou touhu po vodě“. K vyvolání pocitu žízně přispívají v podstatě stejné stimuly (zejména osmotické), které podněcují sekreci vazopresinu. Pocit žízně se dostaví při ztrátě vody asi o 0,5 % tělesné hmotnosti nebo při zvýšení osmotické koncentrace ECT asi o 3-4 mosmol/l. Žízeň bývá provázena pocitem sucha v ústech a sníženou sekrecí slin. Po napití se pocit žízně utiší, a to dříve, než se mohla vypítá voda vstřebat, zředit ECT a než mohly tuto diluci zaregistrovat

centrální receptory, což trvá celkem asi $\frac{1}{2}$ až 1 hod. Toto utišení se nazývá preresorptivní a zabraňuje neadekvátnímu nadměrnému příjmu vody.

Aldosteron je primární hormon odpovědný za řízení resorpce Na^+ a sekrece K^+ v ledvinách. Aldosteron ovlivňuje velikost objemu extracelulární tekutiny, protože s retencí nebo ztrátami Na^+ úzce souvisí změny obsahu vody. Aldosteron se tvoří v zóně glomerulosa kůry nadledvin a řízení jeho sekrece je určeno primárně objemem plazmy. /1/

3.6 Regulační a modulační působení dalších hormonů a signálních molekul na ledviny

Endotelin je peptidový hormon. Je snad neúčinnější známou přirozeně se vyskytující vazokonstrikční látkou a má vazokonstrikční účinky. Cílovou tkání pro endotelin jsou ledviny, které sami endotelin produkují. Endotelin vyvolává v ledvinách silnou a dlouhotrvající vazokonstrikci a snižuje výrazně renální průtok krve. Konstrikci vas afferens i efferens omezuje glomerulární filtraci. Tlumí aktivitu Na^+ - K^+ -ATPázy. Snižuje permeabilitu sběracího kanálku pro vodu a značně tlumí její resorpci.

NO má silné účinky na renální vaskulaturu, na glomerulární mesangium a i na vylučování NaCl . Adenosin moduluje v ledvinách regionální prokrvení a je rozhodujícím faktorem pro udržení rovnováhy mezi poptávkou buněk po kyslíku a jeho přívodem.

Hormon Langerhansových ostrůvků pankreatu a centrální faktor metabolismu živin insulin hraje v ledvinách důležitou úlohu především ovlivněním resorpce sodíku. Snižuje u člověka vylučování Na^+ močí, a to nezávisle na stavu glykémie.

Dopamin je endogenním regulátorem tubulárního transportu elektrolytů a vody. Tlumí resorpci sodíku inhibicí Na^+ - K^+ -ATPázy a Na^+/H^+ výměníku. /1/

3.7 Funkce ledvin v udržování acidobazické rovnováhy

Ledviny jsou hlavním orgánem regulace acidobazické rovnováhy resp. udržování stálého pH tělesných tekutin. Za normálních okolností převažuje při metabolických dějích tvorba kyselin nad alkáliemi, takže organismus je trvale ohrožován acidózou. Přitom se pH extracelulární tekutiny udržuje stále a velmi málo kolísá okolo hodnoty 7,4 pH arteriální krve zdravého člověka činí $7,4 \pm 0,02$, smíšené venózní krve $7,38 \pm 0,02$. Již malé odchylky pH od normální hodnoty mohou způsobit velké změny enzymatických procesů v buňkách. Jako hranice slučitelnosti se životem se uvádí pH ECT 6,8 až 7,8. Při velké acidóze dochází ke smrti v komatu, význačná alkalóza vede ke smrti v tetanických křečích. Organismus dospělého zdravého člověka vyprodukuje za den při průměrné metabolické aktivitě 15000 až 20000 mmol tzv. „prchavých kyselin“ (sloučením CO_2 s H_2O vzniká H_2CO_3) a 30-80 mmol neprchavých resp. fixních kyselin. Veškeré tyto kyseliny musí být z organismu vyloučeny. Nejprve však musí být vyrovnávány výkyvy pH vnitřního prostředí, k nimž by produkce iontů H^+ vedla. Obranu proti změnám koncentrace H^+ iontů zabezpečují tři základní systémy; chemický, tj. nárazníky, a dva fyziologické, tj. plíce a ledviny. Nárazníky neboli pufrý jsou roztoky dvou nebo více chemických sloučenin, které zabraňují větším změnám koncentrace H^+ . Patří sem hydrogenkarbonátový systém, fosfátový systém, plazmatické proteiny a hemoglobin. Funkce nárazníkových systémů spočívá v tom, že vážou vodíkové ionty, přičemž jsou silné kyseliny konvertovány na slabé. CO_2 dodává denně do tělesných tekutin okolo 10000 mmol H^+ , takže jeho odstraňování dýcháním je naprosto nezbytné. Stoupne-li pCO_2 v arteriální krvi, dráždí dýchací ústředí, zvýší se ventilace plic a přebytečný CO_2 je vydýchán. Podobně působí pokles pH. Respirační regulace je tedy druhým mechanismem udržování acidobazické rovnováhy. Regulace pH vnitřního prostředí ledvinami spočívá v možnosti vylučovat kyselou eventuálně zásaditou moč. Neutralizace kyselin má za

následek spotřebovávání HCO_3^- a nárazníková kapacita ECT může být zachována pouze tehdy, když se H^+ ionty vyloučí a hydrogenkarbonát regeneruje. Úlohou ledvin je tedy zabránit ztrátám filtrovaného HCO_3^- a vracet jej do krve a generovat tzv. „nový“ hydrogenkarbonát, ztracený pufrováním silných kyselin. Moč může mít – podle stavu metabolismu a úrovně denní produkce iontů H^+ - pH od 4,5 až do 8,0. Mechanismy, kterými se ledviny adaptují na výkyvy pH a kterými regulují acidobazickou rovnováhu ovšem trvají delší dobu. Pufrování kyselin nárazníky extracelulární tekutiny trvá řádově několik vteřin, vydýchávání CO_2 několik minut, ale ledviny potřebují k normalizaci pH asi 1-5 dní, zato však jejich mechanismy jsou nejúčinnější. Mohou odstranit denně více než 500 mmol. kyselin nebo zásad (větší nálož však už nemohou zdolat a vyvine se acidóza nebo alkalóza). Za normálních okolností se u zdravého člověka tvoří více kyselin než zásad a pH moči činí zpravidla 5,8 až 6,0, čili moč je kyselá. /1/

3.8 Patologie ledvin

Patologie ledvin je naukou o chorobných pochodech a změnách v ledvinách, resp. změnách ve vývodních cestách močových. Jedná se o velice obsáhlou problematiku zahrnující různé poruchy metabolismu vody a elektrolytů, dědičná onemocnění, glomerulopatie, diabetické nefropatie, hypertenzi a cévní onemocnění, poruchy ledvin v těhotenství, infekce močových cest, nemoci tubulů a intersticia ledvin, mykotické infekce a parazitární onemocnění ledvin, urolitiazы, nádory ledvin, akutní a chronická selhání ledvin včetně uremického syndromu, přes mimotělné metody nahrazující funkci ledvin až po celou problematiku transplantace ledvin. Už jenom pouhý výčet možných problémů ukazuje na faktickou nemožnost detailnějšího rozpracování jednotlivých uvedených problémů v této mé práci. Proto by jsem se chtěl o něco podrobněji věnovat jenom problematice nemoci glomerulů, jejich poruch funkce, včetně poruchy glomerulární selektivní permeability, nefrotickému syndromu až po intersticiální nefritidu, tj. problematice která je nejbližší k zadání mé diplomové práci.

3.8.1 Nemoci glomerulů

Nemoci glomerulů představují velmi heterogenní skupinu nemocí, které můžeme třídit podle různých kritérií. Glomerulonefritidy jsou glomerulopatie vznikající zpravidla v důsledku aktivace imunitních mechanismů, poněkud se zánětlivými změnami v glomerulech. Klinicky zpravidla rozlišujeme zejména glomerulopatie primární s izolovaným postižením ledvin a sekundární, kde postižení glomerulů je jen jedním z projevů systémového, cévního, metabolického nebo genetického onemocnění postihujícího i jiné orgány.

Glomerulonefritidy můžeme též dělit podle časového vývoje onemocnění. Akutní glomerulonefritida je charakterizována náhlým začátkem, často s rozvojem reální insuficience během několika dnů, obvykle s postupnou úpravou renální funkce v průběhu několika týdnů. Rychle progredující subakutní glomerulonefritidy vedou obvykle neléčeny během několika týdnů, resp. měsíců k progredující ztrátě funkce ledvin, terapii lze často renální funkci obnovit nebo alespoň stabilizovat. Chronické glomerulonefritidy ohrožují nemocné zejména velmi pomalou, léta až desetiletí trvající, zato však soustavnou a často terapeuticky obtížně ovlivnitelnou progresi do chronického selhání ledvin.

Různé glomerulopatie mají do značné míry typický močový nález. Základem pro klasifikaci glomerulopatií zůstává nález v renální biopsii. Změny mohou postihovat jen

některé glomeruly (lokální změny a jen některé kapilární kličky) segmentální změny, nebo mohou být postiženy všechny glomeruly (difuzní změny a všechny kapilární kličky v glomerulu) globální změny.

Pro klasifikaci glomerulopatií je důležitým nálezem zvýšení buněčnosti glomerulu, které může být způsobeno jak infiltrací glomerulu krevními elementy(exsudace neutrofilů, monocytů, lymfocytů, tak zmnožením) proliferací mezangialních, endotelových nebo epitelových buněk. Glomerulonefritidy tak můžeme dělit na neproliferativní u kterých není buněčnost glomerulů zvýšená a na glomerulonefritidy proliferativní se zvýšeným množstvím buněk v glomerulech. Zmnoženy mohou být buď buňky uvnitř kapilárního trsu (mezangiální buňky, endotelie, neutrofilny a monocyty) endokapilární proliferace, nebo může docházet k zmnožení buněk vytvářejících výstelku Bowmanova pouzdra (parietální epitelie, ale také vcestovalé monocyty se vznikem tzv. srpků) extrakapilární proliferace. Extrakapilární proliferace je vždy známkou závažného poškození glomerulární kapilární stěny a přítomnost srpků ve většině glomerulů je typická pro rychle progredující glomerulonefritidy. Nejobvyklejším typem endokapilární proliferace je zmnožení mezangiálních buněk (mezangiální proliferace, obvykle s různým stupněm zmnožení mezangiální matrix) mezangiální sklerózou. Periferní expanze mezangia, které se vtlačuje mezi bazální membránu a endotelové buňky periferních kapilárních kliček, je typická pro tzv. membranoproliferativní glomerulonefritidu.

Příčinou poškození glomerulů zánětem mohou být rozpustné komplexy antigen-protilátka, které se vychytávají na bazální membráně glomerulů a aktivací komplementu vyvolají lokální zánět. Tím dojde k poškození glomerulárních kapilár a ke zničení filtru-imunokomplexová nefritida. Jako antigeny přichází v úvahu celá řada léků, alergenů a patogenních mikroorganismů. Často jsou to streptokoky. Podstatně vzácnější než imunokomplexová nefritida je tzv. Masugiho nefritida, která je vyvolána autoprotiilátkami proti bazální membráně. Následky lokálního zánětu jsou iniciální hyperemie, nahromadění neutrofilních granulocytů-exsudativní fáze a poškození bazální membrány, která je nezdědka zřetelně zesílená.Často dochází k proliferaci endotelových buněk, mezangialních buněk nebo podocytů a nakonec k nadměrné tvorbě mezangiální matrix-sklerotizace.

Glomeruly mohou být také poškozeny bez místního zánětu, např. ukládáním amyloidu při amyloidóze, vysokou koncentrací filtrovatelných bílkovin v plazmě, vysokým tlakem v glomerulárních kapilárách např. arteriální hypertenze, venózní trombóza ledvin, venózní městnání při insuficienci pravého srdce, hyperfiltrace při diabetické neuropatii a také nedostatečnou perfuzí např. ateroskleróza, arterioskleróza. Pokles prokrvení ledvin stimuluje uvolňování reninu, který přes angiotenzin a aldosteron podněcuje zvýšení krevního tlaku. Navíc snížené vylučování NaCl a H₂O, podmíněné poklesem GFR, podporuje vývoj hypertenze. Poškození glomerulárního filtru vede ke ztrátě selektivní permeability a vyvíjí se proteinurie a edémy. Porucha struktury a funkce ledvin může zničit mj. i buňky produkující erythropoetin a vést k rozvoji anémie. /2,4/

3.8.2 Porucha glomerulární selektivní permeability, nefrotický syndrom

Glomerulární filtr není stejnoměrně propustný pro všechny součásti krve (permeabilitní selektivita). Molekuly, jejichž průměr je větší než průměr póru, filtrem vůbec neprocházejí. Molekuly s výrazně menším průměrem prostupují prakticky stejně dobře jako voda, tj. jejich koncentrace ve filtrátu je přibližně stejná jako v plazmě. Molekuly, které jsou jen o něco málo menší než průměr pórů, mohou následovat vodu jen částečně a jejich koncentrace ve filtrátu je nižší než v plazmě.

Pro permeabilitu je však směrodatná nejen velikost ale i náboj molekul. Normálně procházejí negativně nabitě molekuly mnohem hůře než neutrální nebo pozitivní. Za toto jejich chování jsou odpovědné fixní negativní náboje filtru, které průchod negativních částic ztěžují. Při glomerulonefritidě může být integrita filtru prolomena, takže přístup do dutiny Bowmanova pouzdra získají nejen plazmatické bílkoviny ale dokonce i erytrocyty. Následkem je proteinurie a hematurie. Především stoupá propustnost pro negativně nabitě bílkoviny. Selektivita při glomerulonefritidě zmizí a filtrace dextranů s negativním nábojem masivně stoupne. Jak ukazuje elektroforéza, procházejí především malé, silně negativně nabitě albuminy. Menší proteiny propouští i intaktní glomerulus a tyto bílkoviny jsou v proximálním nefronu opět resorbovány. Při poruše resorpce proteinů v proximálním tubulu jsou vylučovány především nízkomolekulární bílkoviny (tubulární proteinurie). Ztráta bílkovin ledvinami při poškození glomerulů vede k hypoproteinemii. Při elektroforéze séra je nápadný především úbytek albuminů, zatímco koncentrace větších proteinů spíše stoupá. Snížený onkotický tlak v cévním řečišti vede totiž v periférii ke zvýšené filtraci plazmatické vody a tím ke koncentrování ostatních složek krve. Filtrace v periferních kapilárách je usnadněná nejen poklesem onkotického tlaku ale i poškozením kapilární stěny, která může být při glomerulonefritidě rovněž postižena zánětlivými změnami. Jestliže odvádění lymfatickými cévami nestačí, vyvinou se edémy.

Při výskytu proteinurie, hypoproteinemie a periferních edémů hovoříme o nefrotickém syndromu. Protože lipoproteiny nejsou ani při poškození glomerulárního filtru filtrovány a hypoproteinemie přitom stimuluje jejich tvorbu v játrech, dochází k hyperlipidemii a tím také k hypercholesterolemii.

Ztráta plazmatické vody v podobě jejího přestupu do intersticia znamená pokles objemu krve a tím žízeň, sekreci antidiuretického hormonu (ADH) a prostřednictvím reninu a angiotenzinu i aldosteronu. Zvýšený přísun vody a vzestup resorpce chloridu sodného a vody podporuje edémy. Vzhledem k tomu, že aldosteron stimuluje vylučování K^+ a H^+ ledvinami vzniká hypokalemie a alkalóza. /2,4/

3.8.3 Intersticiální nefritida

O intersticiální nefritidě hovoříme při takových zánětlivých změnách ledvin, kdy zánět nevychází z glomerulů. Tkáň ledviny je přitom přesycena zánětlivými buňkami, především granulocyty. Zánět může způsobit lokální zničení ledvinové tkáně. Nejčastější formou je bakteriální nefritida (pyelonefritida). Infekce většinou vychází z močových cest, vzácněji z krve. Intersticiální nefritida může být vyvolána i bez infekce a to ukládáním konkrémentů (vápenaté soli, kyselina močová) v ledvinové dřeni. Konečně může k intersticiální nefritidě dojít na základě intoxikace, alergie, při ozáření nebo jako reakce odvržení transplantované ledviny. /4/

3.8.4 Clearance

Clearance pochází od anglického slova to Clear = očistit, vyklidit (tento pojem původně vznikl pro označení schopnosti ledvin očistit krev od močovin). Měření clearance látek, jejichž chování v ledvinách známe, umožňuje posoudit činnost ledvin jako celku, a to jejich tři základní funkce: průtok plazmy ledvinami, velikost glomerulární filtrace a celkovou kapacitu tubulů vylučovat či resorbovat účinné látky. Z obecného hlediska musí jakákoliv indikátorová látka splňovat několik kritérií: musí být volně filtrována a nesmí se vázat na plazmatické bílkoviny, její prostup glomerulárním filtrem nesmí být omezován ani rozměrem ani tvarem molekuly ani nábojem. Látka nesmí být toxická, nesmí podléhat v ledvinách žádné metabolické změně, nesmí být žádným orgánem vychytávána a musí být dobře

stanovitelná v krvi (plazmě) i moči. K měření průtoku plazmy ledvinami se používá clearance kyseliny paraaminohippurové (PAH), která se volně filtruje v glomerulech a navíc je vylučována z krve do tubulů tubulární sekrecí. Její clearance (C_{PAH}) činí u dospělého člověka 600-800 ml/min. Pomocí C_{PAH} měříme tzv. efektivní průtok plazmy ledvinami, který je o 8-10 % menší než skutečný a vyhovuje běžným praktickým účelům. K měření se musí používat nízké hladiny PAH v krvi. Po dobu měření musí být hladina PAH konstantní, čehož se dosahuje intravenózní infuzí. Clearance ostatních látek, které se v tubulech více či méně resorbují, je menší, než C_{PAH} a je tím menší, čím větší je jejich resorpce. Zvláštní postavení mají látky, které se vylučují jen glomerulární filtrací a v tubulech nepodléhají ani resorpci, ani sekreci. Pomocí takových látek můžeme změřit velikost glomerulární filtrace neboť jejich vyloučené množství se musí rovnat množství profiltrovanému. Použitá látka musí volně procházet glomerulární membránou, nesmí procházet tubulární stěnou v žádném směru, nesmí sama ovlivňovat glomerulární filtraci a musí odpovídat všem dalším výše uvedeným kritériím. Těmto požadavkům odpovídá polymer fruktózy inulin (m. h. = 5200), který je fyziologicky indiferentní a dobře se filtruje. Clearance inulinu (C_{in}) je důležitá, protože umožňuje posuzovat způsob vylučování jiných látek. Je-li clearance vyšetřované látky menší, než (C_{in}), znamená to že látka je po filtraci v glomerulech více nebo méně resorbována v tubulech zpět do krve; je-li větší, svědčí to o tubulární sekreci. Ke stanovení velikosti glomerulární filtrace se také používá clearance tzv. endogenního kreatinu. Za normálních podmínek činí clearance endogenního kreatininu kolo 120 ml/min, avšak může se pohybovat od 80 do 180 ml/min. Endogenní kreatinin pochází z metabolismu ve svalech, jeho hladina závisí na velikosti svalové hmoty a u jednotlivce málo kolísá.

Měření glomerulární filtrace je jednou z nejdůležitějších funkčních zkoušek ledvin, která dovolu je posoudit činnost glomerulů a v klinické praxi má velký význam. Známe-li clearance inulinu, můžeme také vypočítat tubulární resorpční maximum (T_m).

Stanovení C_{PAH} a C_{in} také dovolu je vypočítat, jaký podíl s protékající plazmy činí množství glomerulárního filtrátu, čili **filtrační frakci** (FF). Ze změn FF můžeme usuzovat na změny filtračního tlaku v glomerulech. /1/

3.9 Principy měření glomerulární filtrace

Princip měření glomerulární filtrace byl objeven již v roce 1926 Rohbergem který usoudil, že tuto hodnotu by bylo možno měřit na podkladě látky, která přechází do glomerulárního filtrátu ve stejné koncentraci, jakou má v plasmě, a v tubulech není resorbována ani secernována. To znamená, že množství takové látky vyloučené do moči (U.V) musí být stejné jako množství, které v téže časové jednotce bylo profiltrováno v glomerulech. Množství látky profiltrované v glomerulech je dáno součinem její koncentrace v glomerulárním filtrátu a objemem filtrátu (GF). U látky o malé molekule je koncentrace v glomerulárním filtrátu stejná jako v plazmě (P).

Uvedenou úvahu lze vyjádřit následující rovnicí :

$$GF \cdot P = U \cdot V \quad \text{z toho} \quad GF = \frac{U \cdot V}{P}$$

Druhá rovnice současně vyjadřuje, že hodnota glomerulárního filtrátu je rovna clearanci látky, která se v tubulech neresorbuje ani nesecknuje. Rohberg se domníval, že látkou těchto vlastností je kreatinin, protože ze všech tehdy známých látek vykazoval největší hodnotu koncentračního indexu (U) / (P).

Pozdější studie ukázaly, že tento předpoklad u člověka není správný. Bylo prokázáno, že kreatinin se vylučuje u člověka a antropoidních opic nejen glomerulární filtrací, ale zčásti též tubulární sekrecí. Naproti tomu u psa, kočky a krysy je kreatinin vylučován pouze glomerulární filtrací, a je lze jej tedy u těchto zvířat užít k měření glomerulární filtrace. Zjištění, zda nějaká látka se vylučuje pouze glomeruly a že nedochází k její resorpci ani sekreci, není jednoduché. Mikropunkční technikou je možno potvrdit, že koncentrace sledované látky v glomerulárním filtrátu je stejná jako v plazmě. Touto problematikou se zabýval Smith, který vypracoval kritéria pro posouzení, zda nějaká látka je vylučována pouze glomeruly.

1. Sledovaná látka musí volně procházet membránami které propouštějí pouze malé molekuly, ale zadržují větší molekuly. Dokonalým potvrzením předpokladu, že sledovaná látka přechází volně glomerulární membránou a že tedy její koncentrace v glomerulárním filtrátu je stejná jako v plazmě, je zjišťování koncentrace látky sledované v glomerulární tekutině s užitím punkční techniky.

2. z rovnice $GF = \frac{U \cdot V}{P}$ vyplývá, že je-li látka vylučována pouze glomeruly, musí existovat přímý vztah (lineární závislost) mezi hodnotou P a $U \cdot V$. Každé zvýšení P musí být provázeno proporcionálním zvýšením $U \cdot V$, takže poměr $\frac{U \cdot V}{P}$ zůstává konstantní, nemění-li

se glomerulární filtrace. Lineární závislost udaná touto rovnicí má dále tu vlastnost, že přímka udávající vztah mezi P a $U \cdot V$ prochází počátkem. Jinak řečeno, při nulové plazmatické koncentraci je rovněž nulové vylučování do moči.

3. Závislost mezi P a $U \cdot V$ může indikovat hodnotu GF u některých látek, které se v tubulech resorbují nebo secernují. Tato možnost však existuje pouze u těch látek, jejichž tubulární transport je omezen určitým maximem (T_m), kterého je dosaženo při vysokých plazmatických koncentracích. V těchto případech platí $U \cdot V = GF \cdot P \pm T_m$.

Typickou látkou s resorpčním maximem je glukosa a typickou látkou s maximem sekreční hodnoty je kys. PAH.

4. Pro předpoklad, že sledovaná látka je vylučována pouze glomeruly, svědčí zjištění, že směrnice přímk, udávající vztah mezi P a $U \cdot V$, je stejná pro látky různé chemické struktury. Této podmínce vyhovují látky : insulin, kreatinin, ferrokyanid a allantoin.

5. Látka, kterou zvolíme pro měření glomerulární filtrace, nesmí být toxická, musí vyhovovat všem farmakologickým požadavkům. Dále taková látka musí být fyziologicky indiferentní a sama o sobě nesmí ovlivňovat intensitu glomerulární filtrace.

S ohledem na uvedený rozbor vyhovuje všem požadavkům nejlépe inulin. Inulin je z uvedeného hlediska látkou tak dalece prozkoumanou, že jej lze v současné době považovat za referenční látku pro posouzení jiných látek z hlediska vhodnosti užití k měření glomerulární filtrace.

Renální clearance exogenního kreatininu je u člověka vyšší než clearance inulinu, což znamená, že tato látka je z části vylučována tubulární sekrecí. Naproti tomu je pozoruhodné, že clearance tzv. endogenního kreatininu se u zdravých jedinců blíží hodnotě clearance inulinu.

Vzhledem k tomu, že stanovování clearance endogenního kreatininu je jednodušší než měření clearance inulinu, byla otázka vztahu clearancí obou látek podrobně analyzována.

Nejdříve je třeba zodpovědět otázku, čím je způsoben rozdíl mezi clearancí exogenního a endogenního kreatininu.

Metoda s kys. pikrovou, kterou stanovujeme koncentraci tzv. endogenního kreatininu, nepostihuje pouze kreatinin jako takový, ale i jiné látky, které dávají tzv. Jaffé pozitivní reakci. Ve skutečnosti tedy těmito metodami nestanovujeme clearanci endogenního kreatininu, ale Jaffé pozitivního chromogenu.

Při exogenní zátěži hodnota skutečného kreatininu významně převyšuje hodnotu ne kreatininové složky Jaffé pozitivního chromogenu, takže je (při dostatečně vysokých koncentracích) měřena prakticky pouze clearance kreatininu.

Při stanovování clearance endogenního Jaffé pozitivního chromogenu se může uplatňovat ta okolnost, že ne kreatininová komponenta Jaffé pozitivního chromogenu může mít jiný mechanismus vylučování ledvinami než kreatinin.

Jestliže je kreatinin vylučován zčásti tubulární sekrecí a jestliže ne kreatininové komponenty Jaffé pozitivního chromogenu jsou z části v tubulech resorbovány, může se při užití vhodné analytické metody „rušit“ sekrece kreatininu resorpcí jiných látek, takže výsledný efekt je, jako by Jaffé pozitivní chromogen byl vylučován pouze glomeruly bez účasti tubulů.

Správně bychom tedy měli mluvit nikoli o clearanci endogenního kreatininu, ale o clearanci endogenního Jaffé pozitivního chromogenu. Označení clearance endogenního kreatininu je tak vžitě, že toto označení se dále užívá, avšak s vědomím výše uvedeného rozporu.

Je pochopitelné, že za patologických podmínek může být tubulární transport jednotlivých komponent Jaffé pozitivního chromogenu různě postižen, takže jeho výsledná clearancová hodnota se může různě odchylovat od clearance inulinu.

Souhrnně lze k této problematice říci, že v současné době můžeme považovat za nejvhodnější látku k měření glomerulární filtrace u člověka inulin. Pro odhad této renální funkce lze v praxi užít clearance endogenního kreatininu, avšak s vědomím, že je-li glomerulární filtrace snížena, mohou vzniknout rozdíly mezi clearancí endogenního kreatininu a inulinu.

Měření glomerulární filtrace umožňuje současně měření tubulární resorpce vody (T_{H_2O}). Objem vody, který byl v jedné minutě tubuly resorbován, je dán rozdílem mezi hodnotou glomerulární filtrace a objem moči vytvořeným v té době.

$$T_{H_2O} = GF - V$$

Na podkladě tohoto vzorce zjišťujeme resorpci vody v ml/min. V praxi se však lépe osvědčuje posouzení této funkce ve vztahu k GF. Poměr $\frac{T_{H_2O}}{GF} \cdot 100$ udává v procentech jaká část z

profiltrovaného množství vody byla resorbována v tubulech RF_{H_2O}

$$RF_{H_2O} = \frac{T_{H_2O}}{GF} \cdot 100 = \frac{(GF - V)}{GF} \cdot 100$$

Jiným častým způsobem, který se užívá, je vyjádření resorpce vody ve formě tzv. exkreční frakce vody (EF_{H_2O}). Tato hodnota udává v procentech, jaká část z profiltrovaného množství vody je vylučována do definitivní moči: $EF_{H_2O} = \frac{V}{GF} \cdot 100$

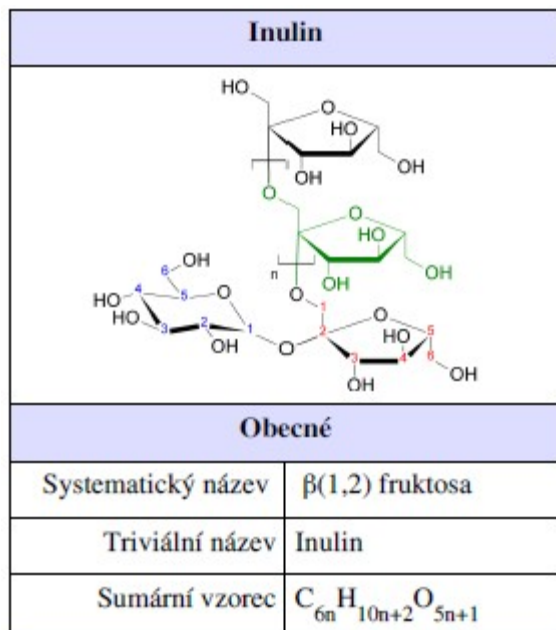
Z obou rovnic je zřejmé, že platí: $RF_{H_2O} = 100 - EF_{H_2O}$

Z hlediska klinického funkčního vyšetřování glomerulární filtrace má však posouzení intensity resorpce vody význam pouze tehdy, jestliže vyšetření není prováděno za podmínek navozené vodní diurézy, kdy je pochopitelně resorpce vody snížena.

Za normálních okolností se RF_{H_2O} pohybuje okolo 99 % a neklesá pod hodnotu 98 %.

3.10 Metody stanovení glomerulární filtrace se sběrem moče

3.10.1 Inulin



Obr.7. Struktura inulinu /26/

Inulin je polymer, složený z jednotek fruktosy spojených navzájem β (1,2) glykosidickou vazbou. Množství fruktos se pohybuje od 2 do 140, typicky jich bývá 20-30. Koncová cukerná jednotka je tvořena glukosou. Relativní molekulová hmotnost inulinu je 5200 Da.

/11/

3.10.2 Renální clearance inulinu

Měření renální clearance inulinu vyžaduje sledování jeho vyloučeného množství do moči za podmínek stabilizované plazmatické koncentrace. Sběr moči se děje obvykle pomocí cévkování měchýře, ale vyšetření se dá upravit tak, že je měchýř vyprazdňován spontánní mikcí.

Vytvoření stálé plazmatické koncentrace :

Renální clearanci inulinu vyšetřujeme při plazmatické hladině 20-30 mg %. Tuto hladinu vytvoříme pomocí nárazové dávky a udržovací infuse.

Nárazová dávka:

Jelikož distribuční prostor inulinu odpovídá objemu extracelulární tekutiny, lze množství inulinu které máme aplikovat nárazovou dávkou vypočítat na podkladě vzorce :

$$\text{nárazová dávka} = 0,2 \text{ tělesná váha} \cdot P$$

kde P značí hodnotu plazmatické koncentrace, kterou chceme vytvořit udržovací infusí. Jestliže např. vyšetřovaná osoba má tělesnou váhu 72 kg a chceme vytvořit plazmatickou hladinu 25 mg %, bude výpočet :

$$\text{nárazová dávka} = 0,2 \cdot 72 \cdot 250 = 3600\text{mg}$$

Jiný způsob , jak můžeme vypočítat velikost nárazové dávky, je tento :

Aplikujeme 50 mg inulinu na kg váhy. Po aplikaci nárazové dávky zavádíme okamžitě udržovací infusi.

Udržovací dávka :

Množství inulinu, které musíme aplikovat každou minutu udržovací infusí, vypočítáme ze vzorce :

$$\text{udržovací dávka} = GF \cdot P$$

Velikost glomerulární filtrace u vyšetřovaného jedince obvykle odhadujeme na podkladě hodnoty clearance endogenního kreatininu, kterou stanovujeme den před vlastním vyšetřením.

Jestliže na podkladě hodnoty clearance endogenního kreatininu odhadujeme glomerulární filtraci např. na 80 ml/min a má-li být dosaženo $P = 25 \text{ mg \%}$, bude výpočet udržovací dávky následující :

$$\text{udržovací dávka} = 80 \cdot 0,25 = 20 \text{ mg}$$

Vypočítané množství inulinu rozpustíme vždy ve fyziologickém roztoku. Jak již bylo vysvětleno, používáme buď běžné infusní soupravy, nebo lépe mikroinfusního aparátu. Podle toho, jaký bude minutový přísun roztoku, vypočítáme, v jaké koncentraci musíme roztok aplikovat.

Rychlost infuze musí být průběžně kontrolována.

Odběry krevních vzorků. Před aplikací nárazové dávky nabíráme vzorek krve za účelem stanovení tzv. slepé hodnoty . Za 60 minut po zapnutí udržovací infuze nabíráme obvykle 3 vzorky krve z druhostranné kubitální žíly.

Sběr moči pomocí cévkování měchýře. Za účelem dosažení dostatečně velké diurézy dáváme hodinu před vyšetřením vypít okolo 1 l vody. Cévkou do měchýře zavádíme rovněž obvykle asi hodinu před vyšetřením. Po dosažení stabilizované plazmatické koncentrace začínáme prvou sběrnou močovou periodou tím, že vyprázdníme měchýř.

Provedeme při tom výplach 20 ml fyziologického roztoku a instalaci 60 ml vzduchu. Dobu vyprázdnění měchýře přesně zaznamenejme. Doba trvání sběrných period činí obvykle 10–20 minut. Uprostřed každé sběrné močové periody nabíráme vzorek krve a dobu náběru přesně zaznamenejme. Obvykle vyšetřujeme 3 sběrné periody.

Ve vzorcích moči a plasmy stanovíme koncentraci inulinu. Vypočítáme průměrné množství inulinu vyloučeného do moči za 1 minutu v každé sběrné periodě.

Jestliže bylo dosaženo stabilizované plazmatické koncentrace inulinu, je výpočet C_{in} jednoduchý. Vypočítané vyloučené množství za minutu dělíme zjištěnou plazmatickou koncentrací. Při dosažení stabilizované plazmatické koncentrace se jednotlivé hodnoty od sebe navzájem neliší více, než činí chyba stanovení inulinu užitou analytickou metodou. Jestliže nebylo dosaženo stabilizované koncentrace, nanese se zjištěné plazmatické koncentrace na semilogaritmický papír v závislosti na čase. K výpočtu C_{in} pro jednotlivé sběrné periody použijeme hodnoty, která by podle grafu existovala 2 minuty před středem sběrné močové periody.

Sběr moči spontánní mikcí. Jestliže není třeba vyšetřovat sérii sběrných period, snažíme se vystačit s vyšetřením jedné delší sběrné periody a s vyprazdňováním měchýře spontánní mikcí. Tento postup vyžaduje, aby vyšetřovaná osoba měla možnosti pohybu. To znamená, že infuze musí být napojena pomocí dostatečně dlouhé spojovací trubičky nebo

flexibilní cévkou. Vyšetřovaná osoba během udržovací infuse obvykle sedí. Aby diuréza byla dostatečně velká, dáváme hodinu před zahájením sběrné periody vypít asi 1 l vody.

Po 60 minutách chodu udržovací infuse se vyšetřovaná osoba spontánně vymočí. Okamžik dokončení mikce se zaznamená (vyšetřovaná osoba tento okamžik udá podle svých hodinek, jejichž čas jsme si seřídili s našimi hodinkami).

Sběrná močová perioda trvá obvykle 30 až 60 minut a je ukončena spontánní mikcí. Objem moči musí být minimálně 100 ml, jinak je třeba sběrnou periodu prodloužit. Během sběrné periody nabíráme obvykle 3-4 krevní vzorky z druhostranné kubitální žíly. Prvý vzorek nabíráme na začátku sběrné periody, uprostřed periody nabíráme 1-2 vzorky a poslední před ukončením sběrného údobí.

Jestliže bylo dosaženo stabilizované plazmatické hladiny, provedeme výpočet C_{in} obvyklým způsobem. Množství inulinu vyloučeného průměrně za 1 minutu do moči dělíme plazmatickou hladinou.

Výpočet C_{in} je následující

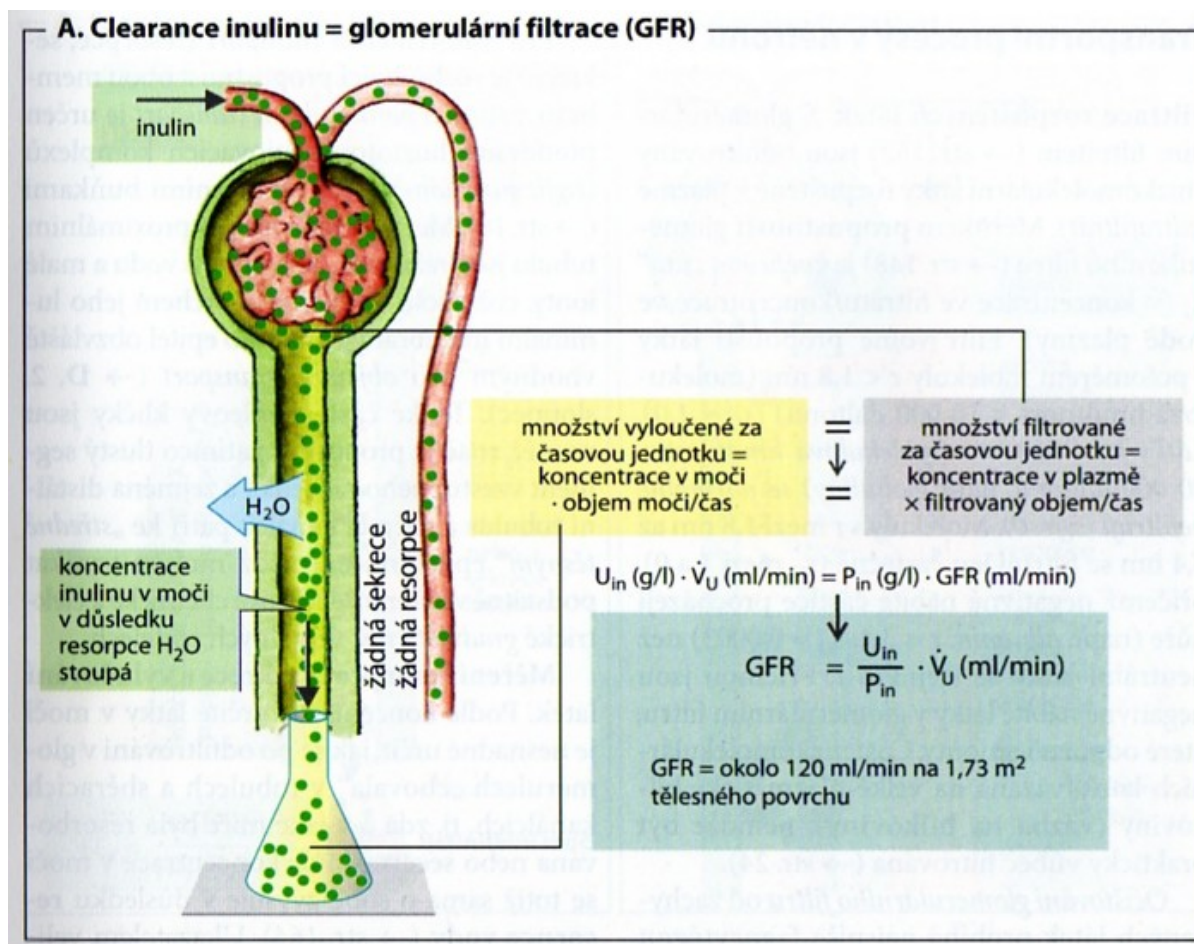
$$C_{in} = \frac{\text{množství inulinu vyloučeného za celé sběrné údobí}}{S} \quad /5/$$

3.10.3 Plazmatická clearance inulinu

V případech, kdy nelze zaručit přesný sběr moči spontánní mikcí a nechceme cévkovat močový měchýř, je možno odhadnout velikost glomerulární filtrace na podkladě plazmatické clearance inulinu. Vzhledem k tomu, že inulin je z organismu vylučován pouze ledvinami, je pokles jeho plazmatických hladin (po jednorázové, intravenosní aplikaci) určován intenzitou jeho renálního vylučování.

Z druhostranné kubitální žíly odebíráme vzorky pomocí vhodné jehly s mandrénem. Krevní vzorky odebíráme za 3, 5, 10, 20, 35, 60, 90 a 120 minut po aplikaci inulinu.

Odběry krevních vzorků je možno provádět i v jiných časových intervalech, je však třeba zaručit, aby křivka plazmatických koncentrací byla dostatečně prokreslena, a to od začátku (po injekci) až po vymizení inulinu z plasmy. V případech, kdy glomerulární filtrace je velmi snížena, klesají plazmatické koncentrace inulinu pomaleji a trvá delší dobu, než koncentrace klesne k nule. Někdy je proto nutné vyšetření opakovat a při druhém vyšetření zvolit nové, vhodnější doby odběru krevních vzorků. / 5 /



Obr.8. Clearance inulinu / 19/

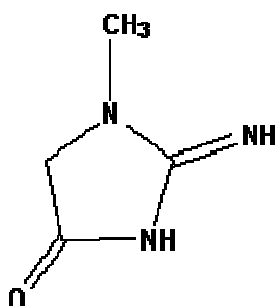
3.11 Kreatinin

Chemická struktura

Terminologie: 2-amino-1,5-dihydro-1-methyl-4H-imidazol-4-on,
2-amino-1-methyl-4-imidazolidinon

Sumární vzorec: C₄H₇N₃O

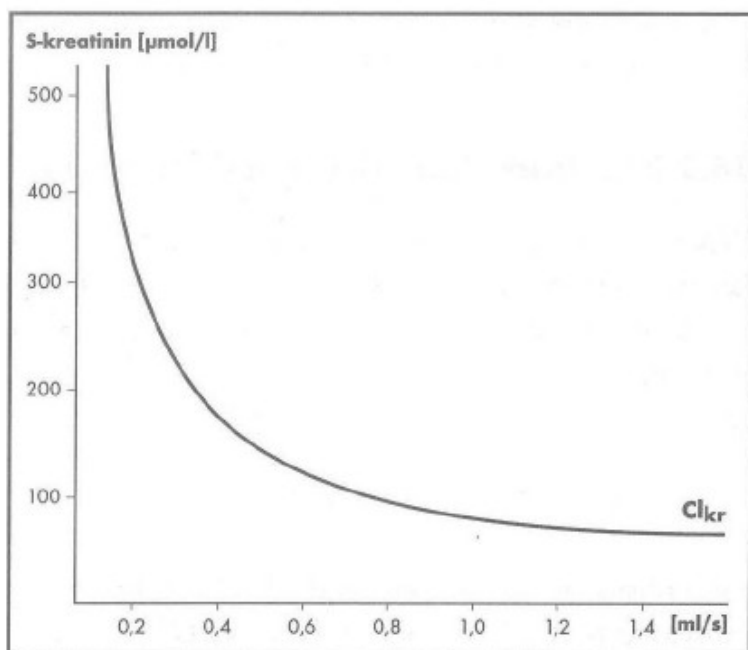
relativní molekulová hmotnost: 113,12 g/mol /29/



Obr.9. Vzorec kreatininu /23/

Vzniká jako konečný produkt svalového energetického metabolismu (neenzymovou dehydratací kreatinu). Kreatinin v krevní plasmě je při průchodu ledvinou filtrován do glomerulárního filtrátu z 90 % a přibližně 10 % je do moči secernováno tubuly. Koncentrace

sérového kreatininu je přímo úměrná svalové hmotě organismu. Je tedy nepřímo závislá na věku, pohlaví a funkci glomerulů.



Obr.10. Závislost koncentrace kreatininu při klesající hodnotě clearance kreatininu /24/

Tab.1. Referenční meze kreatininu v séru /38/

věk	koncentrace (umol/l)
0 - 4 dny	27 - 88
4 dny - 1 rok	18 - 35
1 rok - 15 roků	27 - 62
15 - 18 roků	44 - 88
18 - 99 roků ženy:	53 - 97
18 - 99 roků muži:	62 - 115

3.11.1 Změny koncentrace kreatininu

Zvýšení hladiny kreatininu v plasmě se může vyskytovat při selhání ledvin, úrazech svalů, při vysokém příjmu proteinů v potravě.

Snížení hladiny kreatininu v plasmě je typické pro svalové atrofie a dystrofie a u různých poruch příjmu potravy.

3.11.2 Možnosti ovlivnění v preanalytické fázi

- Svalová hmota: Kreatinin je konečný produkt svalového metabolismu, a tak velikost svalové hmoty je faktor určující jeho koncentraci.
- Pohlaví: Ženy mívají hodnoty kreatininu nižší než muži vzhledem k menší svalové hmotě.
- Věk: Děti a staří lidé mají hodnotu kreatininu nižší z důvodu úbytku svalové hmoty.

- Cirkadiální rytmus: Jelikož kreatinin stoupá při fyzické práci tak je také ovlivněn denními rytmy. Jeho maximum je večer a oproti minimu ráno může být rozdíl až 50 %
- Těhotenství: v posledním trimestru stoupá glomerulární filtrace a tím klesá množství kreatininu v plazmě.

3.11.3 Stanovení kreatininu

Referenční metoda

Referenční metodou stanovení kreatininu je ID-GC/MS (izotopové zředování a stanovení plynovou chromatografií s detekcí hmotnostní spektrometrií) a HPLC (vysokoúčinná kapalinová chromatografie).

Chemické metody

Většina chemických metod pro měření kreatininu je založená na reakci s kyselinou pikrovou, která nese jméno svého objevitele Jaffeho reakce a je pod tímto názvem všeobecně prezentována a známa. Principem je reakce kyseliny pikrové v alkalickém prostředí, kde se tvoří barevný oranžovo-červený komplex, který je úměrný koncentraci kreatininu. Mechanismus reakce je stále studován, ale pořád ještě není úplně objasněn. Předpokládá se, že 2-3 nitro skupiny v molekule kyseliny pikrové a vodík v meta pozici jsou odpovědné za reakci s kreatininem. Hydroxylová skupina nejprve vytvoří s kyselinou pikrovou pikrát iontový komplex. Následně methylová skupina kreatininu reaguje s pikrátovým aniontem a vytváří v poměru 1:1 tzv. Janovský komplex. Načervenalo-oranžová adiční sloučenina kreatininu a kys. pikrové v poměru 1:1 je pomalu převedená na stabilní žlutou sloučeninu podle prvního řádu kinetik. Když se koncentrace kreatininu a kyseliny pikrové udržují, vzniká cca 10% komplexu v poměru 2:1. Rostoucí koncentrace hydroxylové skupiny posune počty pohlcení k delším vlnovým délkám. /30,31,32,33/

Po mnoho desetiletí jsou chemické metody nepoužívanější ke stanovení pro svou dostupnost a cenovou nenáročnost i přes svou nespecifičnost. To je hlavní nevýhoda Jaffeho reakce, kdy specifičnost ruší různé látky označované jako „noncreatinine chromogens“. Je to asi 50 sloučenin, které tvoří reakční produkt s alkalickým pikrátem podobný tomu, jež je vytvářen s kreatininem. V porovnání s kreatininem reagují některé interferenty, jako například kyselina octová, rychleji, zatímco jiné, například glukóza, reagují s alkalickým pikrátem pomaleji. V závislosti na užívané modifikaci jsou tyto látky přičteny k hodnotě kreatininu, a tak nadehodnocují výsledky jeho stanovení. Interferenty jsou např. ketony a ketolátky, včetně acetonu a acetoctanu, pyruvátu, kyseliny askorbové, glukózy, cefalosporinů, barbiturátů, bílkovin, bilirubinu, guanidinu. Míra interference těchto sloučenin je závislá na specifické reakci. Efekt ketonů a ketokyselin má pravděpodobně největší význam klinicky, ačkoli účinek je závislý na metodě. Žlučové barvivo záporně zasahuje do Jaffeho reakce. Přidání chránících iontů, jako boritanu a fosforečnanu, společně s činidlem, je užíváno k minimalizaci efektů této interference. Také ferrikyanid O'Learyovy metody okysličuje žlučové barvivo na biliverdin a tím snižuje jeho interference. /34/

V plazmě se vyskytuje méně interferujících látek než v plné krvi (červené krvinky). V moči je zanedbatelné množství interferentů.

Za dobu užívání Jaffeho reakce se vyvinulo poměrně dost modifikací, snažících se o zvýšení specifičnosti reakce.

Největší úspěch přišel s použitím kinetického přístupu měření. Před automatizací metody se Jaffeho reakce prováděla za pokojové teploty a barevný vývoj byl omezen na dobu od 1 do 15 minut. S rozvojem kinetického přístupu se mohly reakční podmínky lépe upravovat a s automatickými analyzátoři i standardizovat. Vývoj se ubíral k lepší specifičnosti a

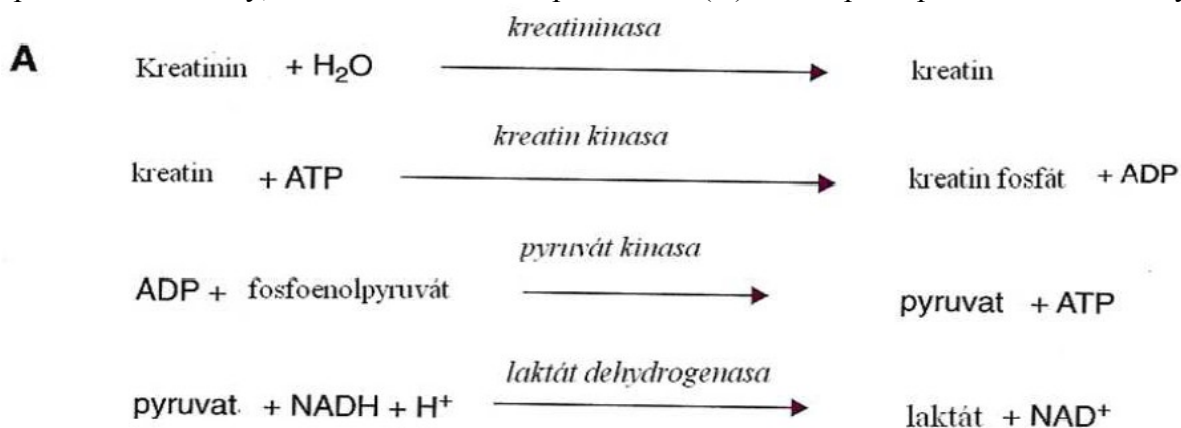
rychlosti. V kinetické metodě se měřicí body posunuly tak, aby intercedenty časné fáze zreagovaly a nepřičetly se ke stanovovanému kreatininu. Tato doba je udávána do 20 sekund a reaguje takto např. acetocetan. Druhý čas reakce od 20 sekund do 80 sekund je připsán převážně reakci kreatinin - pikrát. Následuje třetí doba od 80 - 100 sekund, kdy reaguje další řada interferentů hlavně bílkoviny. /35/

Enzymové metody

Enzymy z řady degradačních kreatininových metabolických cest (viz obr. 7), byly zkoumány pro enzymové měření kreatininu. Všechny metody zahrnují vícestupňový přístup vedoucí k fotometrické rovnováze.

Kreatininasa

Kreatininasa (EC 3.5.2.10; kreatinin amidohydrolasa) katalyzuje přeměnu kreatininu nakreatin. Kreatin vstupuje do další reakce s kreatinkinasou a následuje série enzymových zprostředkovaných reakcí zahrnujících pyruvát kinasu a laktát dehydrogenasu. Degradace kreatininu je propojena stechiometricky na oxidaci NADH na NAD⁺, která je měřitelná spektrofotometricky, snížením absorpance při 340 nm (A). Tento přístup není široce užívaný.

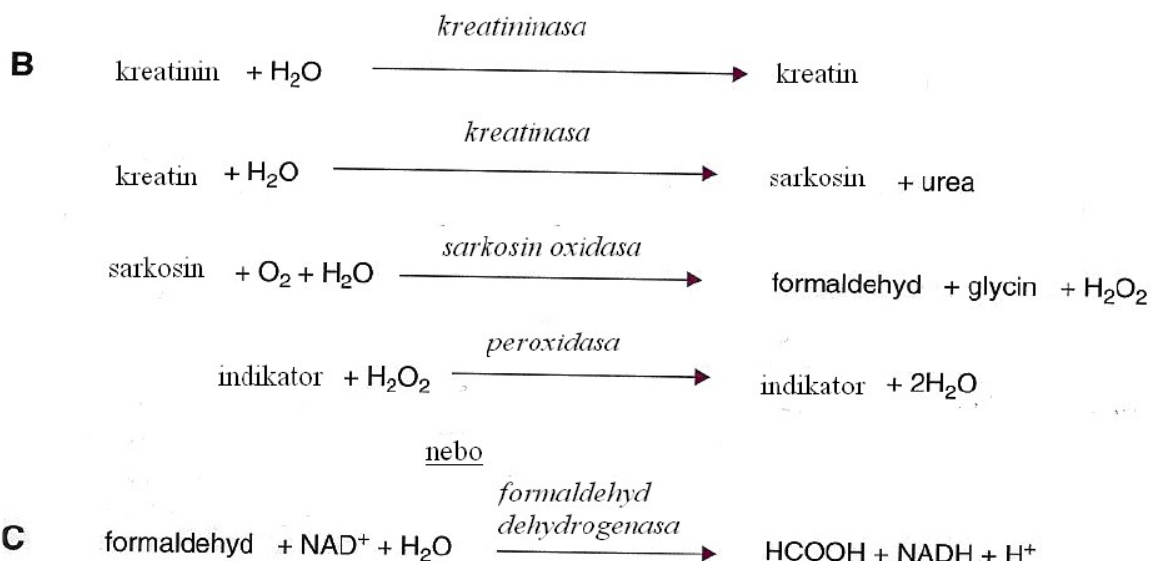


Kreatininasa a Kreatinasa

Nejpoužívanější je použití kreatinasy (EC 3.5.3.3; kreatin amidinohydrolasa), kdy produktem je sarkosin a močovina. Reakce dále probíhá se sarkosinem a s enzymem sarkosin oxidasa. Tato reakce produkuje glycin, formaldehyd, a peroxid vodíku (B). Pomocí peroxidasy se peroxid vodíku používá k výrobě barevné látky, která může být měřena spektrofotometricky nebo fluorimetricky.

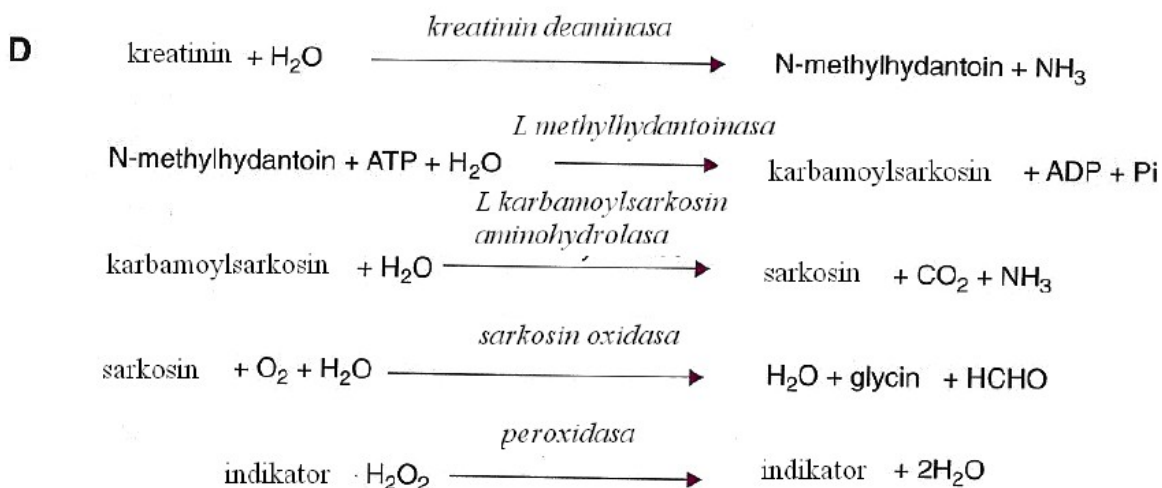
Například v indikátorové reakci s fenolem-aminem-fenazonem (reakcí PAP), peroxid vodíku reaguje formováním červeného barviva, jehož pohlcení při 546 (510) nm je úměrné koncentraci kreatininu. Tato reakce má i své interference. Žlučové barvivo se minimalizuje přidáváním kyanoželezitanu draselného (s omezeným úspěchem) či bilirubin oxidasou. Potenciální interference, způsobené kyselinou askorbovou, se odbourá enzymem askorbát oxidasa. Vliv endogenního kreatinu a močoviny je minimalizován přidáváním preinkubačního kroku.

Alternativní zakončení může být reakcí s nicotinamidadeninucleotidem (NAD⁺) a formaldehydem v přítomnosti formaldehyd dehydrogenasy (C).



Kreatinin deaminasa (Kreatinin UV test)

Další enzym využitý ke stanovení je kreatinin deaminasa (EC 3.5.4.21; kreatinin iminohydrolasa). Tento enzym katalyzuje přeměnu kreatininu k N - methylhydantoinu a amoniaku. Časné metody se soustředily na odhalení amoniaku používáním buď glutamát dehydrogenasy či Berthelotovy reakce (bromfenolově modrý indikátor reakce). Amoniak je stanovitelný v následující reakci katalyzované enzymem N -methylhydantoin amidohydrolasa. Tato metoda má výhodu ve dvou krokové reakci, ale nevýhodou je těkavý amoniak, který by mohl mít negativní vliv na přesnost metody. Poslední postup zahrnuje pět kroků, a je nejsložitější. Kreatinin deaminasa, Lmethylhydantoin amidohydrolasa, N-karbamoylsarkosin amidohydrolasa, sarkosin oxidasa, a peroxidasa.(D).



Interference u enzymových metod

Avšak ani enzymové metody nejsou zcela bez ovlivnění. Metody zakončené reakcí s peroxidasou jsou ovlivněné kyselinou askorbovou či bilirubinem. Pro odstanění interference se přidává hexakyanoželeznatan draselný, bilirubin oxidasa nebo askorbát oxidasa. Je potvrzena i interference katecholaminů – dopamin, dobutamin, epinefrin a norepinefrin na enzymové stanovení zakončené peroxidasovou reakcí(tzv. Trindelovou reakcí).

Katecholaminy jsou příčinou falešně sníženého výsledku kreatininu i v koncentracích běžné pro klinické dávkování. Chemický mechanismus tohoto rušení je v reakci dopaminu s 4 – aminofenazonem za vzniku chinon sloučeniny s iminovou barvou. Dobutamin zasahuje do reakce rychlou oxidací peroxidu v přítomnosti peroxidasy a to vede k vyčerpání peroxidu, který nemůže dále reagovat s chromoforem.

Další problém u katecholaminů je v jejich nízké stabilitě v odebraném vzorku. Po více jak 24 hodinách interference mizí a následné stanovení se jeví spíše jako náhodná chyba než jako analytická interference.

Jako další interferenty jsou deriváty cytosinu, jako jsou antibiotika 5-fluorocytosin, které mohou působit jako substráty kreatinin deaminasy. Problém jde obejít použitím více specifických kreatinin deaminas, buď získaných z přírodních zdrojů, nebo uměle biotechnologicky.

Další nevýhody enzymové metody jsou potenciálně nižší stabilita a skladování a stále ještě mnohem vyšší cena než u Jaffeho reakce. /34,35,36/

3.12 Cystatin C



Obr.11. Molekula cystatinu C /25/

Cystatin C je polypeptid a zástupce II cystatinové rodiny inhibitorů cysteinových proteáz. Je složen ze 120 aminokyselin. Molární hmotnost je 13359 g/mol. Tato látka je vytvářena všemi jadernými buňkami (syntéza není ovlivněna dietou), volně prochází glomerulární membránou a je zachycována tubulárními buňkami. Molekuly cystatinu C, které pronikly do nitra tubulárních buněk, jsou v jejich nitru metabolizovány, takže do peritubulární extracelulární tekutiny žádný cystatin C nepřechází. Výsledkem toho je, že očišťování extracelulární tekutiny od cystatinu C je přímo úměrné GF. Koncentrace v moči je mírou funkce proximálních tubulů.

Pro odhad glomerulární filtrace z cystatinu C je řada rovnic. Musíme si zvolit rovnici odpovídající principu stanovení (PENIA, PETIA).

Princip PENIA – nefelometrie (rozsah měření 0,23-8,0 mg/l)

Princip PETIA – turbidimetrie (rozsah měření 0,5-14,0 mg/l)

Pro metodu PENIA (Leveyova rovnice)

$$eGF = 1,278 * S_{cyst}^{-1,19} \text{ ml.s}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$$

S_{cyst} – koncentrace cystatinu C mg/l

Pro metodu PETIA (Grubbova rovnice)

$$eGF = 1,412 * S_{cyst}^{-1,68} \text{ ml.s}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$$

S_{cyst} – koncentrace cystatinu C mg/l

Tab.2. Referenční meze – PENIA

Věk	Rozmezí (mg/l)
do 1 měsíce	1,37 – 1,89
1 – 12 měsíců	0,73 – 1,17
1 – 14 let	0,51 – 0,95
do 50 let	0,53 – 0,96
nad 50 let	0,57 – 1,05

Tab.3. Referenční meze - PETIA

Věk	Rozmezí (mg/l)
do 1 měsíce	1,64 – 2,59
1 – 18 let	0,70 – 1,38
20 – 50 let	0,70 – 1,22
nad 50 let	0,84 – 1,55

Interference při stanovení oběma metodami jsou malé. Zásadní rozdíl je při kalibrování metod. Jsou různé referenční intervaly a proto je nutné při odhadu glomerulární filtrace použít správný způsob výpočtu. /10,37, 42/

3.12.1 Renální clearance endogenního kreatininu

Clearance tzv. endogenního kreatinu lze považovat za klinicky přijatelný odhad velikosti glomerulární filtrace. Kreatinin je u člověka vylučován nejen glomerulární filtrací, ale zčásti též tubulární sekrecí v proximálním tubulu. U zdravých jedinců je tubulární sekrecí vylučováno do moči 5-10% vylučovaného kreatininu. Clearance kreatininu tedy velikost glomerulární filtrace systematicky nadhodnocuje.

Renální clearance kreatininu se určuje na podkladě měření močového vylučování kreatininu (U_{kr}) ve sledovaném období a sérové koncentrace kreatininu - S_{kr} . Výpočet se provádí dle vzorce:

$$C_{kr} = \frac{U_{kr} \cdot V}{S_{kr}}$$

Kde je: U_{kr} ... koncentrace kreatininu v moči v $\mu\text{mol/l}$
 V ... značí objem moči vytvořený ve sledované časové jednotce v ml/s
 S_{kr} ... je koncentrace kreatininu v krevním séru v $\mu\text{mol/l}$

Hodnota C_{kr} se více blíží posouzení GF než S_{kr} , protože tato veličina není ovlivněna extrarenálními faktory působícími na hodnotu S_{kr} . Jde o extrarenální vylučování kreatininu (především střevem u jedinců v pokročilejším stadiu CKD), změny distribučního prostoru kreatininu (zvláště u jedinců s velkými otoky), objemu svalové hmoty a nadměrného příjmu masa. Produkce kreatininu závisí též na funkci jater, kde je tvořen kreatinin z kreatinu ze svalové hmoty. Hodnoty se přepočítávají na ideální tělesný povrch ($1,73 \text{ m}^2$).

Jak je zřejmé ze vzorce pro výpočet C_{kr} , je pro stanovení této veličiny nutný přesný sběr moči. Tato okolnost je v denní praxi často velkým problémem a chyby v nepřesném

sběru moči znemožňují posoudit přesně Ckr. To je jedním z hlavních důvodů, proč řada kliniků raději volí hodnocení Skr nebo užije výpočtové metody.

U zdravého dospělého člověka Ckr pouze lehce přesahuje GFR (o 10-20 %) v důsledku nevelké tubulární sekrece kreatininu v proximálním tubulu. U jedinců s chronickým renálním onemocněním (CKD 4-5) se tubulární sekrece kreatininu relativně zvyšuje (vzhledem k velmi snížené glomerulární filtraci) a v konečných stádiích chronického selhání ledvin může přesahovat GF o 100 i více procent. /5,12,13,14/

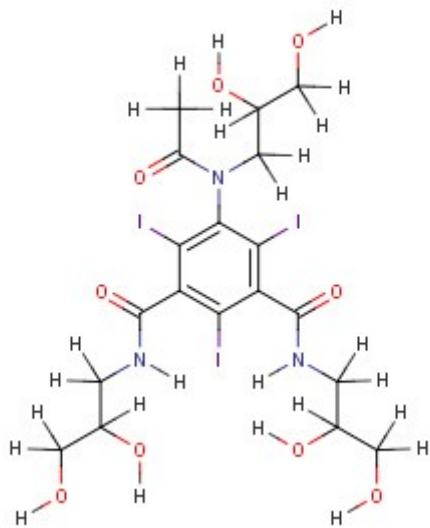
3.13 Metody stanovení glomerulární filtrace bez sběru moči

3.13.1 Renální clearance látek značených izotopem

^{99m}Tc – DTPA (diethyltriaminopentaoctová kyselina), ^{51}Cr – EDTA (ethylendiaminotetraoctová kyselina), ^{125}I – thalamat

Radionuklidové metody používané k vyšetření renálních funkcí umožňují posoudit vylučování izotopem značených látek z organismu ledvinami. Rychlost poklesu aktivity v plazmě je dána velikostí GF, resp. Tubulární sekrece. Při dynamické scintigrafii je také možnost posoudit odděleně funkci pravé a levé ledviny. Známé množství látky značené izotopem je jednorázově podáno do žíly a ve stanovených časových intervalech je sledován pokles plazmatické koncentrace. Podle podaného množství a rychlosti poklesu plazmatické koncentrace se vypočítá plazmatická clearance, která se shoduje s renální clearancí, v případě látek vylučovaných z organismu pouze glomerulární filtrací. Toto stanovení glomerulární filtrace patří k nejpřesnějším, avšak pro svou náročnost není vhodný ke každodennímu používání. /13,14/

3.13.2 Plazmatická clearance iohexolu



Obr.12. Vzorec iohexolu /27/

Iohexol je neiontová, monomerní, trijodovaná kontrastní rentgenová látka vylučovaná pouze glomerulární filtrací. U nás je tato látka známá pod názvem omnipaque. Iohexol se podává do žíly a v daném časovém intervalu je stanovena plazmatická koncentrace iohexolu vysoko účinnou kapalinovou chromatografií. Z této hodnoty je pak vypočtena clearance iohexolu. Využití iohexolu pro stanovení glomerulární filtrace není příliš běžná metoda z důvodu vyšší technické náročnosti provedení. /15,16/

3.14 Možnosti určování odhadu GFR

Výsledky všech rovnic pro odhad eGFR jsou v $\text{ml} \cdot \text{s}^{-1} \cdot (1,73 \text{ m}^2)^{-1}$. Tato hodnota je označena jako relativní (vzhledem k ideálnímu tělesnému povrchu), současně je uvedena absolutní hodnota (v $\text{ml} \cdot \text{s}^{-1}$).

3.14.1 Odhad clearance kreatininu podle Cockcrofta a Gaulta

Velmi rozšířená rovnice, ale v poslední době již považována za obsoletní. Hodnoty takto vypočítané se shodují s hodnotami kreatininové clearance s přesným sběrem moči. Tyto hodnoty se ale rozcházejí ve vysokém věku a vysoké tělesné hmotnosti.

$(140 - \text{věk}) \times \text{hmotnost} \times F / (S - \text{kreatinin} \times 48,9)$

F pro muže 1

F pro ženy 0,9

Kde je: věk... roky

Hmotnost... tělesná hmotnost v kg

Skr... koncentrace kreatininu v krevním séru v $\mu\text{mol/l}$

poslední člen rovnice je faktor, který se použije pouze pro ženy /14,17/

3.14.2 Odhad GF u dětí pomocí rovnice podle Schwarze

Tato rovnice je doporučována pro odhad glomerulární filtrace u dětí a mladistvých do 18 let.

$$eGF = \frac{F \cdot \text{výška}}{S_{kr}} \quad [\text{ml} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 1,73 \text{m}^2]$$

Kde je:

F ...faktor dle následující tabulky:

Podmínka	Faktor F
věk do 1 roku	0,663 0,487 u předčasně narozených
dívky, věk od 1 do 18 let	0,810
chlapci, věk od 1 do 12 let	0,810
chlapci, věk od 12 do 18 let	0,959

výška ... cm

S_{kr} ...koncentrace kreatininu v krevním séru v $\mu\text{mol/l}$

Možné je též používat stanovení tzv. **maximální koncentrace sérového kreatininu**

pro jedince dané tělesné výšky: $S_{kr}(\text{max}) = \text{výška}(\text{cm}) \cdot 0,54$.

$S_{kr}(\text{max})$ - je poslední ještě normální hladina sérového kreatininu při dolní hranici

Pro orientační odhad hladiny sérového kreatininu má znalost $S_{kr}(\text{max})$ značný praktický význam. /14,17/

3.14.3 Odhad GF ze sérového (plazmatického) cystatinu C dle Grubba

$$GF = 1,4115 \times (S\text{-cystatinC})^{-1,680} \times F$$

pro muže $F = 1$

pro ženy $F = 0,948$

pro děti pod 14 let $= 1,384$

Použití je možné v tzv. „creatinine-blind zone“, tedy v pásmu fyziologických koncentrací kreatininu. Na straně výhod rovnice z cystatinu C je nezávislost na věku, dietě a katabolismu a menší závislost na pohlaví, použití pro oblast GF pod 0,3 ml/s. Je nutné počítat s tím, že mezi odhadem glomerulární filtrace z cystatinu C a rovnicí MDRD jsou výrazné rozdíly, závislé na pásmu filtrace a na pohlaví. /14,17/

3.14.4 Určení eGFR pomocí rovnic Lund-Malmö

V současné době se jedná o upřednostněný výpočet. Důvodem je jednak vynikající korelace se standardní metodou, jednak odvození na evropské populaci a dále možnost použití pro obě pohlaví a široké pásmo koncentrace kreatininu. Výpočet lze v současné době považovat z praktického hlediska za ideální, rovnice jsou ověřeny pro věkový rozsah 1 – 85 let v pásmu koncentrací kreatininu 17 – 545 $\mu\text{mol/l}$.

Rovnice označovaná jako Lund-Malmö byla publikována Björkem v roce 2007 (Björk, 2007) a její použití pro dětský věk bylo ověřeno v roce 2008 (Nyman, 2008). Autoři porovnali metodu zlatého standardu (iohexolovou clearanci) s nově derivovanými Lund-Malmö rovnicemi, s kvadratickou rovnicí Mayo Clinic, s MDRD rovnicí (pro standardizovaný kreatinin), s rovnicí Counahan-Barratovou pro dětský věk (výška, sérový kreatinin) a s Grubbovou rovnicí (cystatin C). Nejlepší shodu se zlatým standardem pro dospělé i pro děti od 1 roku vykazovaly právě rovnice Lund-Malmö. Schwartzovu rovnici pro dětský věk (derivována v roce 1976 na 186 dětech a validována na 223 dětech) autoři nepoužili. /14,17/

$$e^{x-0,0124 \cdot \text{věk} + 0,339 \cdot \ln(\text{věku}) - 0,226} \quad (\text{u žen})$$

$$x = 4,62 - 0,0112 \cdot pCr \quad (pCr < 150 \mu\text{mol/l})$$

$$x = 8,17 + 0,0005 \cdot pCr - 1,07 \cdot \ln(pCr) \quad (pCr \geq 150 \mu\text{mol/l})$$

3.14.5 Určení eGFR pomocí rovnice MDRD

MDRD (Modification of Diet in Renal Disease)

Vzorci vypracované na podkladě velké multicentrické studie, která sledovala vliv příjmu bílkovin v potravě a rychlost progresu chronických renálních onemocnění, se stali běžně užívané.

$eGF = 2,83 \cdot (S_{kr} \cdot 0,0113)^{-0,999} \cdot věk^{-0,176} \cdot (S_{urea} \cdot 2,8)^{-0,170} \cdot (S_{alb} \cdot 0,1)^{0,318} \cdot 0,762 \text{ (ženy)} \cdot 1,18 \text{ (černá populace)}$	
jednoduchou úpravou dostaneme:	[ml.s ⁻¹ .1,73m ⁻²]
$eGF = 100,6339 \cdot S_{kr}^{-0,999} \cdot věk^{-0,176} \cdot S_{urea}^{-0,170} \cdot S_{alb}^{0,318} \cdot 0,762 \text{ (ženy)} \cdot 1,18 \text{ (černá populace)}$	

Kde je: věk... roky

Skr... koncentrace kreatininu v krevním séru v umol/l

Surea... koncentrace močoviny v krevním séru v mmol/l

Salb... koncentrace albuminu v krevním séru v g/l

Na základě současných poznatků je doporučeno pro odhad glomerulární filtrace používat zjednodušenou rovnici MDRD se čtyřmi proměnnými:

$eGF = 547,1535 \cdot S_{kr}^{-1,154} \cdot věk^{-0,203} \cdot 0,742 \text{ (ženy)} \cdot 1,21 \text{ (černá populace)}$	
Při použití standardizované metody stanovení kreatininu, má rovnice modifikovaný tvar:	[ml.s ⁻¹ .1,73m ⁻²]
$eGF = 515,3832 \cdot (stand S_{kr})^{-1,154} \cdot věk^{-0,203} \cdot 0,742 \text{ (ženy)} \cdot 1,21 \text{ (černá populace)}$	

Kde je: věk... roky

Skr... koncentrace kreatininu v krevním séru v umol/l

Surea... koncentrace močoviny v krevním séru v mmol/l

Salb... koncentrace albuminu v krevním séru v g/l

Odhad GF pomocí vzorců MDRD není vhodné používat u dětí a těhotných. /14,17/

3.15 Ostatní rovnice k určení glomerulární filtrace

3.15.1 Určení eGFR pomocí kvadratické rovnice Mayo Clinic

MCQ=exp [1.911+5.249 / SCr-2.114 / SCr²-0.00686*věk-0.205 pro ženy]

SCr- hodnota sérového kreatininu (mg/dl)

Tento odhad u nás dosud nedoznal většího rozšíření. /17,40/

3.15.2 Určení eGFR pomocí clearance kreatininu (a urey)

Drtivá většina dnešních postupů vychází pouze z měřených hodnot v plazmě/séru. Klasický výpočet využívající koncentraci kreatininu v plazmě/séru a v moči sbírané za časový interval dosud neztratila význam. Korekce na tělesný povrch je zásadně nutná. Další možností pro odhad eGFR (u pacientů s chronickým selháním ledvin) je průměr clearance kreatininu a clearance urey s korekcí na tělesný povrch (někdy označováno jako EBPG rovnice, podle European Best Practice Guideline). Vychází se z faktu, že clearance kreatininu u chronického renálního selhání filtraci nadhodnocuje, kdežto clearance urey filtraci podhodnocuje. Rovnice je vhodná pro pacienty v renálním selhání a vyžaduje sběr moče. /17/

3.15.3 Odhad eGFR podle rovnice Cournahana a Barratta

$$eGFR = \frac{0,43 * \text{výška}}{S_{kreat}} \quad [ml \cdot s^{-1} \cdot 1,73 m^{-2}]$$

kde je: výška v cm
 S_{kreat} - koncentrace kreatininu v séru v mg/dl

Rovnice konstrukcí obdobná s původní rovnicí podle Schwartze. Je vhodná pouze pro dětský věk a se zlatým standardem stanovení eGFR koreluje hůře než rovnice Lund-Malmö. /17/

3.15.4 Určení eGFR podle rovnice CKD-EPI

$$GFR = a \times (\text{kreatinin v séru} / b)^c \times (0,993)^{\text{věk}}$$

a - rasa a pohlaví:

-černá	-bílá / ostatní
ženy = 166	ženy = 144
muži = 163	muži = 141

b - pohlaví:

ženy = 0,7
muži = 0,9

c - pohlaví a hodnota kreatininu v séru

ženy:	muži:
kreatinin v séru $\leq 0,7$ mg / dl = -0,329	kreatinin v séru $\leq 0,9$ mg / dl = -0,411
kreatinin v séru $> 0,7$ mg / dl = -1,209	kreatinin v séru $> 0,9$ mg / dl = -1,209

Andrew Levey, autor MDRD rovnice z roku 1999, publikoval nové matematické vztahy v roce 2009. Rovnice jsou označovány jako CKD-EPI a jsou 4: pro muže a ženy, a vždy pro dvě pásma sérové koncentrace kreatininu (a podobně jsou 4 rovnice pro černou rasu). Rovnice jsou pro standardizovaný kreatinin a jsou odvozeny na souboru 5504 pacientů, interně validovány na souboru 2750 pacientů a externě na souboru 3896 pacientů. /17,39/

3.15.5 Rovnice EBPG

(European Best Practice Guidelines for Haemodialysis)

$$GFR_{EBPG} = \frac{U_{\text{objem}}}{2 \times t} \times \left(\frac{U_{\text{urea}}}{S_{\text{urea}}} + \frac{U_{\text{krea}}}{S_{\text{krea}}} \right) \times \frac{1,73}{BSA}$$

U-objem je objem moče za čas t

U urea, U krea, Urea, S krea – močové, sérové koncentrace urey a kreatininu v mmol/l

BSA- tělesný povrch v m^2

Rovnice je primárně určená pro pacienty s chronickým selháním ledvin. Rovnice která je v podstatě průměrem clearance kreatininu a clearance urey s korekcí na tělesný povrch. Vychází s faktu, že kreatininová clearance nadhodnocuje filtraci a clearance urey ji podhodnocuje. /10,17/

3.16 Praktická aplikace

Přednostně by se měla stanovit hodnota eGFR pomocí rovnice Lund-Malmö (a standardizované stanovení kreatininu) pro dětské a dospělé věkové pásmo. Tuto hodnotu je vhodné porovnat s hodnotu eGFR získané z cystatinu C (s ohledem na použitou metodu stanovení, resp. kalibraci). Při shodě obou výsledků je možné pro klinickou interpretaci použít průměr obou měření. U pacientů s výrazně odchýlenou hodnotou svalové hmoty (ve smyslu plus i minus) by se měl využít pouze výsledek eGFR z cystatinu C. U pacientů léčených kortikoidy nebo u pacientů, u nichž je možné ovlivnění koncentrace cystatinu C extrarenálními vlivy, je vhodnější použít výsledek rovnice Lund-Malmö pro standardizované stanovení kreatininu. Hodnoty eGFR nad $1,5 \text{ ml} \cdot \text{s}^{-1} \cdot (1,73 \text{ m}^2)^{-1}$ by se měly udávat ve tvaru $>1,5 \text{ ml} \cdot \text{s}^{-1} \cdot (1,73 \text{ m}^2)^{-1}$. /14,17/

4 PRAKTICKÁ ČÁST

4.1 Sběr dat

Data pro praktickou část byla získána z vybraných patientských vzorků, u kterých bylo požadováno vyšetření sérového kreatininu, cystatinu C a kreatininové clearance. V naší laboratoři ÚKBH LF UK a FN Plzeň provádíme vyšetření glomerulární filtrace metodou clearance endogenního kreatininu. Laboratorní informační systém (Open Lims) vypočítá na základě poskytnutých údajů hodnotu GF podle vzorce pro výpočet clearance endogenního kreatininu. Odhady glomerulárních filtrací nám systém počítá dle vzorců.

1. Cockcrofta a Gaulta
2. Ze sérového (plazmatického) cystatinu C dle Grubba
3. Lund-Malmö
4. MDRD

Stanovení kreatininu v séru a moči bylo provedeno setem firmy Beckman Coulter na přístroji Olympus AU 2700 standardizovanou metodou Jaffé. Stanovení cystatinu C (PETIA) bylo provedeno setem firmy Dako na přístroji Olympus AU 640.

Bylo vybráno celkem 212 patientských vzorků, mužů 119 a 93 žen. Jedním ze základních kritérií bylo vybrat vzorky o různých hodnotách GF tak, aby bylo pokryto pokud možno co

nejširší pásmo hodnot GF, především hodnoty snížené a hodnoty fyziologické. Také u koncentrací kreatininu v séru byla snaha pojmut pokud možno co nejširší rozmezí hodnot.

Tab.4. Zastoupení pohlaví ve vybraném vzorku pacientů

	Počet	Pohlaví	Počet
Pohlaví	212	muž	119
		žena	93

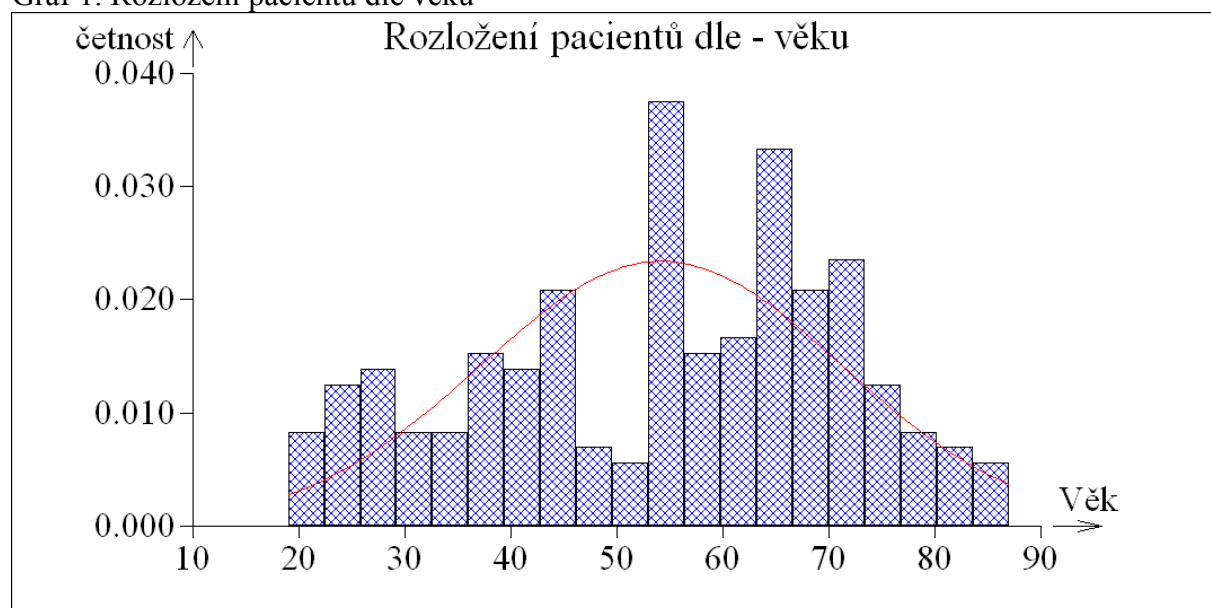
Tab.5. Základní statistická data souboru pacientů

	Počet	Min:	Max:	Průměr:	Medián:
Věk roky	212	19	87	54	56
Diuréza ml	212	500	6000	2428	2305
Čas sběru hod	212	12	24	24	24
Výška cm	212	141	204	171	172
Váha kg	212	50	125	79	74
S_KREA umol/l	212	50	651	122	98
S_CysC mg/l	212	0,65	4,73	1,42	1,13
MDRD zkr. ml/s	212	0,11	1,72	0,97	0,98
qS_LuMa ml/s	212	0,13	1,60	0,92	0,97
qS_GFCy ml/s	212	0,10	2,76	1,15	1,12
C_KREO ml/s	212	0,16	2,49	1,22	1,19
C_KREA ml/s	212	0,13	2,52	1,22	1,18

4.2 Charakteristika získaných dat

4.2.1 Věk

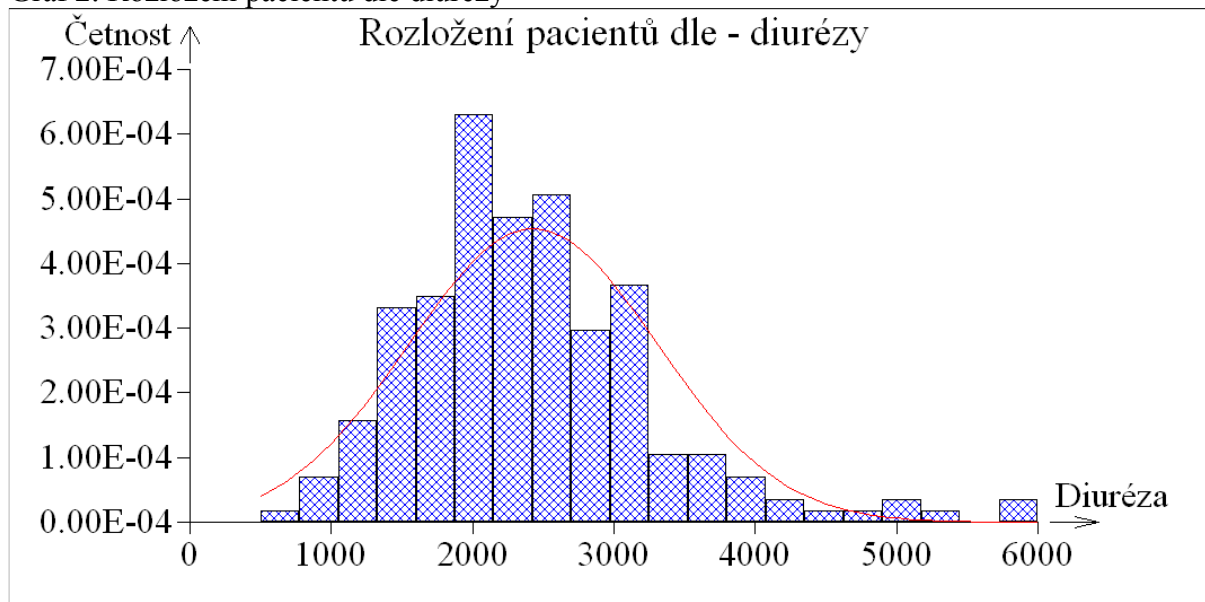
Graf 1. Rozložení pacientů dle věku



Věkové zastoupení u pacientů bylo v rozmezí od 19 do 87 let. Průměrný věk pacientů byl 54 let. Nejčastější zastoupení věku pacientů bylo 48;56;66let. Zastoupení těchto hodnot bylo shodně 10 krát což je 4,72% z celkového počtu pacientů.

4.2.2 Diuréza

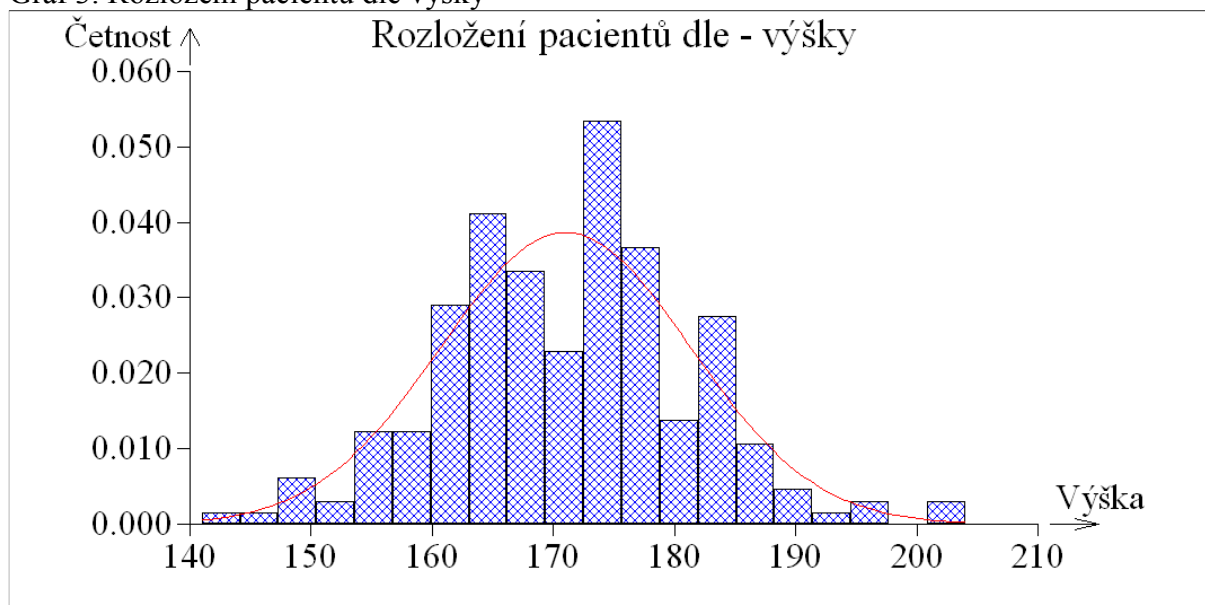
Graf 2. Rozložení pacientů dle diurézy



Sběr moči byl u pacientů v rozmezí od 500 do 6000ml. Průměrná diuréza u pacientů byla 2428 ml. Nejčastější zastoupení diurézy pacientů bylo 2000ml. Zastoupení této hodnoty bylo 16 krát což je 7,55% z celkového počtu pacientů.

4.2.3 Výška

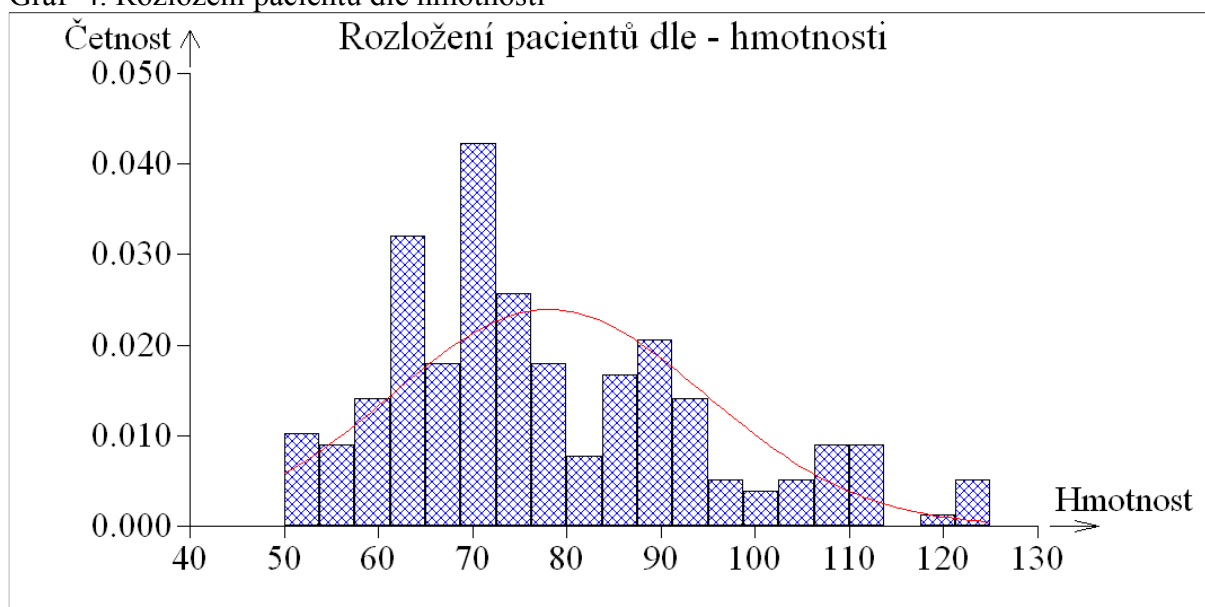
Graf 3. Rozložení pacientů dle výšky



Výškové zastoupení u pacientů bylo v rozmezí od 141 do 204cm. Průměrná výška pacientů byla 171cm. Nejčastější zastoupení výšky pacientů bylo 175cm. Zastoupení této hodnoty bylo 16 krát což je 7,55% z celkového počtu pacientů.

4.2.4 Váha

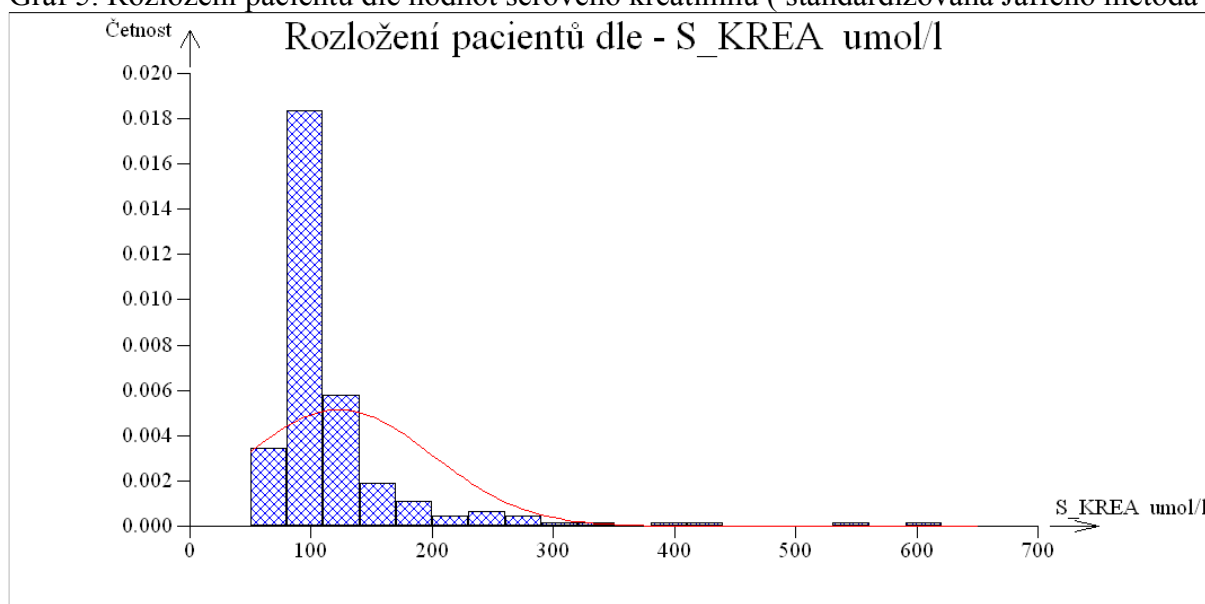
Graf 4. Rozložení pacientů dle hmotnosti



Váhové zastoupení u pacientů bylo v rozmezí od 50 do 125kg. Průměrná váha pacientů byla 79kg. Nejčastější zastoupení váhy pacientů bylo 72kg. Zastoupení této hodnoty bylo 14 krát což je 6,60% z celkového počtu pacientů.

4.2.5 Sérový kreatinin

Graf 5. Rozložení pacientů dle hodnot sérového kreatininu (standardizovaná Jaffého metoda)

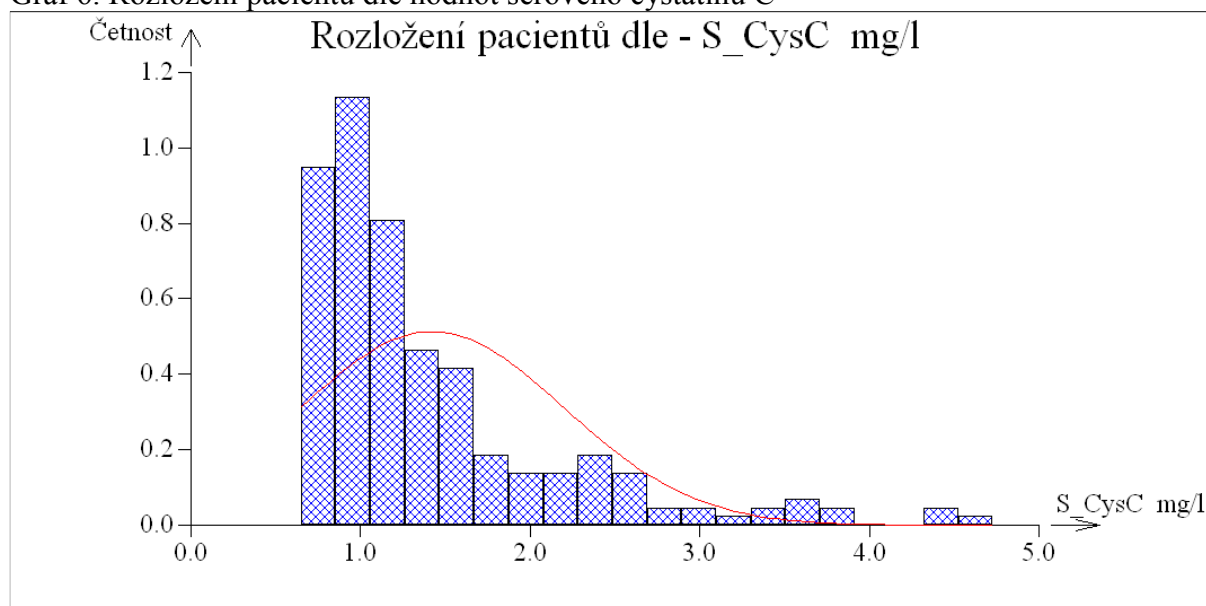


Hladina sérového kreatininu byla u pacientů zastoupena v rozmezí od 50 do 651 $\mu\text{mol/l}$. Průměrná hodnota sérového kreatininu byla 122 $\mu\text{mol/l}$. Nejčastěji zastoupená koncentrace sérového kreatininu byla 96 $\mu\text{mol/l}$. Zastoupení této hodnoty bylo 10 krát což je 4,72% z celkového počtu pacientů. Pokud vezmeme v úvahu fyziologické rozmezí hodnot lze získaná data rozdělit takto:

1. snížená - zde nebyl zastoupen žádný výsledek
2. normální - 160 pacientů což je 75,47% z celkového počtu pacientů
3. zvýšená - 52 pacientů což je 24,53% z celkového počtu pacientů

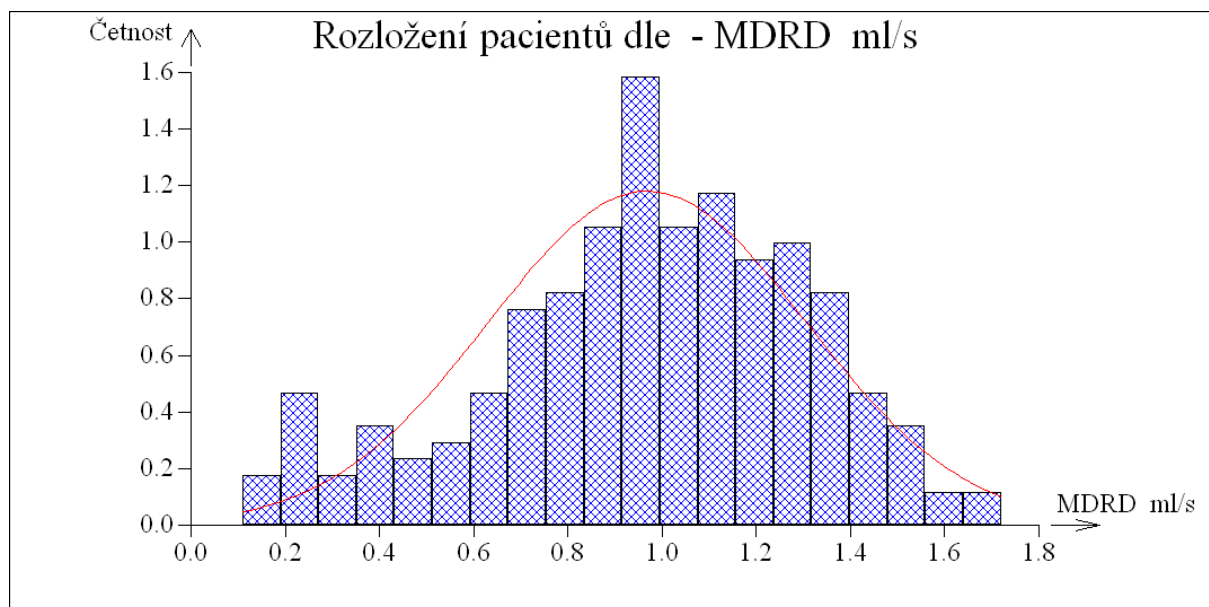
4.2.6 Sérový cystatin C

Graf 6. Rozložení pacientů dle hodnot sérového cystatinu C



4.2.7 Odhad glomerulární filtrace MDRD

Graf 7. Rozložení pacientů dle odhadu pomocí rovnice MDRD

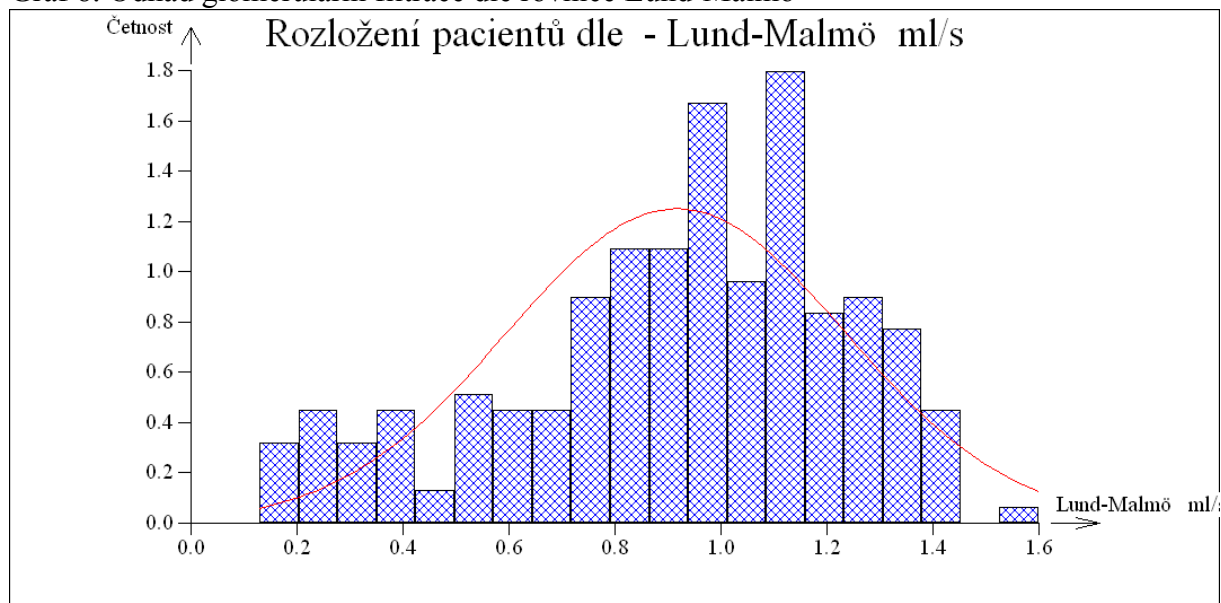


Odhadnutá hodnota dle vzorce MDRD byla u pacientů zastoupena v rozmezí od 0,11 do 1,72 ml/s. Průměrná hodnota odhadu dle vzorce MDRD byla 0,97ml/s. Nejčastěji zastoupená hodnota odhadu byla 1,08 ml/s. Zastoupení této hodnoty bylo 6 krát což je 2,83% z celkového počtu pacientů. Pokud vezmeme v úvahu fyziologické rozmezí hodnot lze získaná data rozdělit takto:

1. snížená - 111 pacientů což je 52,36% z celkového počtu pacientů
2. normální - 101 pacientů což je 47,64% z celkového počtu pacientů
3. zvýšená - zde nebyl zastoupen žádný výsledek

4.2.8 Odhad glomerulární filtrace Lund-Malmö

Graf 8. Odhad glomerulární filtrace dle rovnice Lund-Malmö

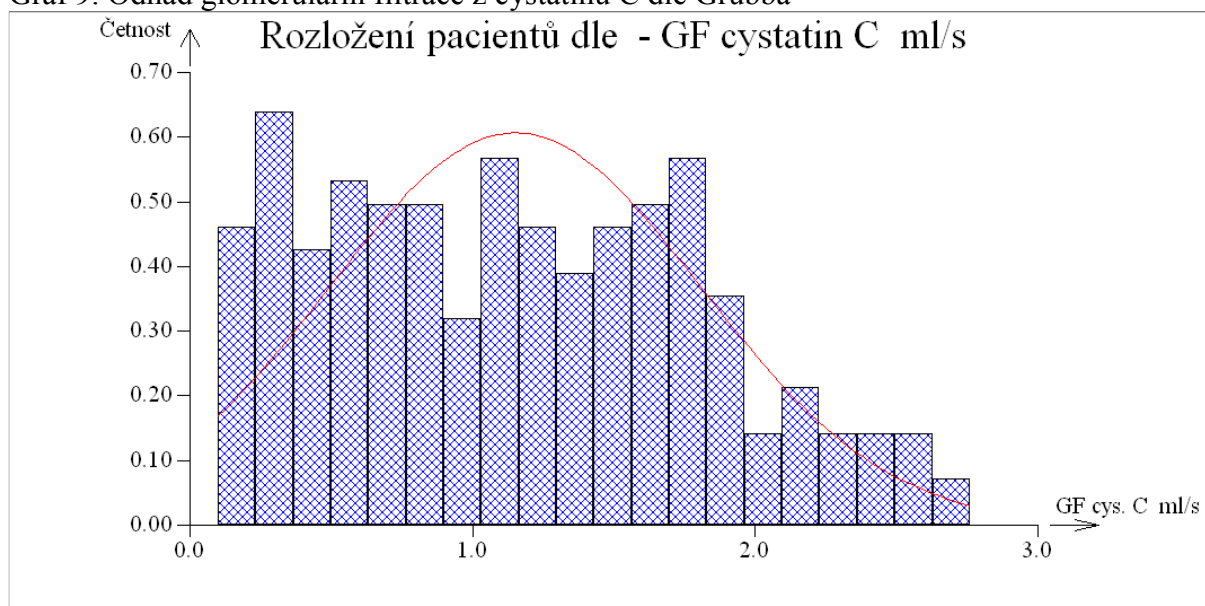


Odhadnutá hodnota dle vzorce Lund-Malmö byla u pacientů zastoupena v rozmezí od 0,13 do 1,60 ml/s. Průměrná hodnota odhadu dle vzorce Lund-Malmö byla 0,92 ml/s. Nejčastěji zastoupená hodnota odhadu byla 1,12 ml/s. Zastoupení této hodnoty bylo 9 krát což je 4,25% z celkového počtu pacientů. Pokud vezmeme v úvahu fyziologické rozmezí hodnot lze získaná data rozdělit takto:

1. snížená - 119 pacientů což je 56,13% z celkového počtu pacientů
2. normální - 93 pacientů což je 43,87% z celkového počtu pacientů
3. zvýšená - zde nebyl zastoupen žádný výsledek

4.2.9 Odhad glomerulární filtrace z cystatinu C dle Grubba

Graf 9. Odhad glomerulární filtrace z cystatinu C dle Grubba

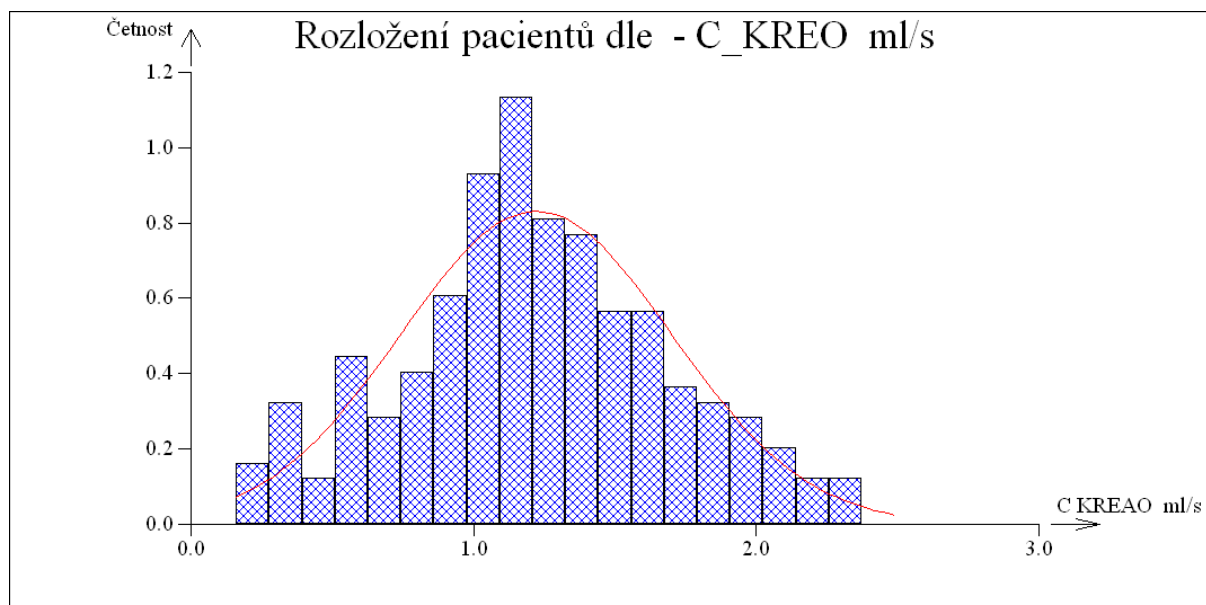


Odhadnutá hodnota dle vzorce Grubba byla u pacientů zastoupena v rozmezí od 0,10 do 2,76 ml/s. Průměrná hodnota odhadu dle vzorce Grubba byla 1,15 ml/s. Nejčastěji zastoupená hodnota odhadu byla 0,32 ml/s. Zastoupení této hodnoty bylo 5 krát což je 2,36% z celkového počtu pacientů. Pokud vezmeme v úvahu fyziologické rozmezí hodnot lze získaná data rozdělit takto:

1. snížená - 149 pacientů což je 70,28% z celkového počtu pacientů
2. normální - 47 pacientů což je 22,17% z celkového počtu pacientů
3. zvýšená - 16 pacientů což je 7,55% z celkového počtu pacientů

4.2.10 Odhad glomerulární filtrace Cockcrofta a Gaulta

Graf 10. Odhad glomerulární filtrace Cockcrofta a Gaulta

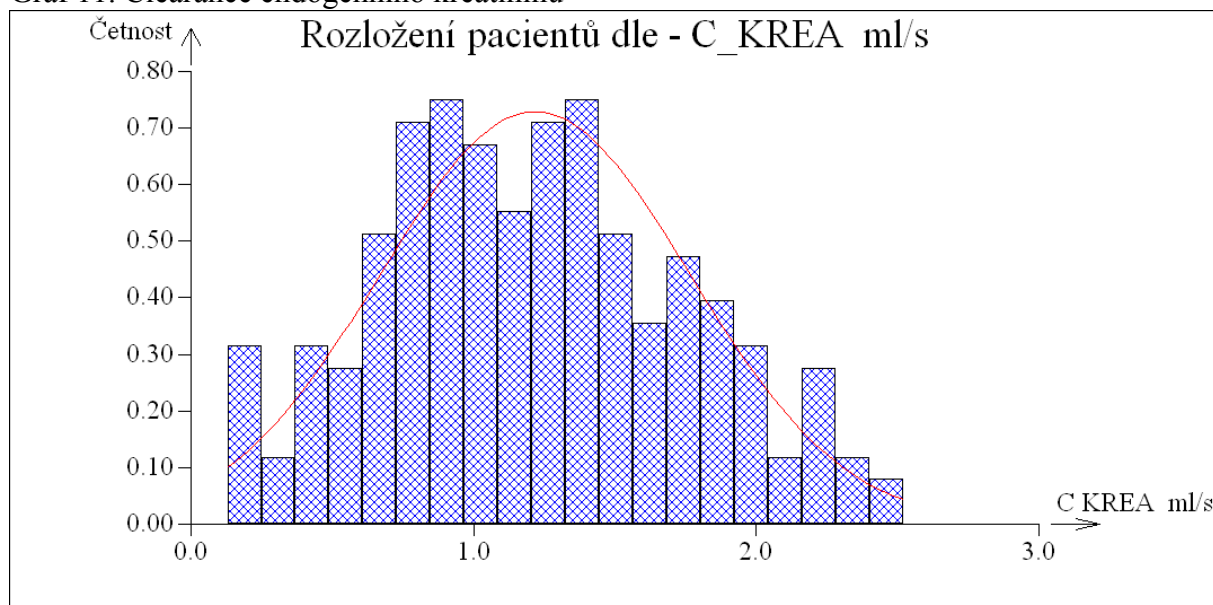


Odhadnutá hodnota dle vzorce Cockcrofta a Gaulta byla u pacientů zastoupena v rozmezí od 0,16 do 2,49 ml/s. Průměrná hodnota odhadu dle vzorce Cockcrofta a Gaulta byla 1,22ml/s. Nejčastěji zastoupená hodnota odhadu byla 1,13 ml/s. Zastoupení této hodnoty bylo 6 krát což je 2,83% z celkového počtu pacientů. Pokud vezmeme v úvahu fyziologické rozmezí hodnot lze získaná data rozdělit takto:

1. snížená - 166 pacientů což je 78,30% z celkového počtu pacientů
2. normální - 42 pacientů což je 19,81% z celkového počtu pacientů
3. zvýšená - 4 pacientů což je 1,89% z celkového počtu pacientů

4.2.11 Clearance endogenního kreatininu

Graf 11. Clearance endogenního kreatininu



Vypočítaná hodnota clearance endogenního kreatininu byla u pacientů zastoupena v rozmezí od 0,12 do 2,52 ml/s. Průměrná hodnota clearance endogenního kreatininu byla 1,22ml/s. Nejčastěji zastoupená hodnota odhadu byla 1,26 ml/s. Zastoupení této hodnoty bylo 5 krát což je 2,36% z celkového počtu pacientů. Pokud vezmeme v úvahu fyziologické rozmezí hodnot lze získaná data rozdělit takto:

1. snížená - 95 pacientů což je 44,81% z celkového počtu pacientů
2. normální - 117 pacientů což je 55,19% z celkového počtu pacientů
3. zvýšená - zde nebyl zastoupen žádný výsledek

4.3 Výběr metod pro porovnání glomerulární filtrace

Pro srovnání s metodou clearance endogenního kreatininu, byly na základě doporučení odborných společností vybrány dvě metody pro výpočet GF bez sběru moči počítající s koncentrací sérového kreatininu. A to odhad pomocí rovnice MDRD a Lund-Malmö. Dále jsme vybrali rovnici pro odhad glomerulární filtrace na základě cystatinu C (dle Grubba). Náš laboratorní systém nám poskytl i odhad glomerulární filtrace dle Cockcrofta a Gaulta. Pro srovnání jsme ho zařadili též, i když v dnešní době se jedná o metodu spíše obsoletní.

4.4 Výpočet glomerulárních filtrací

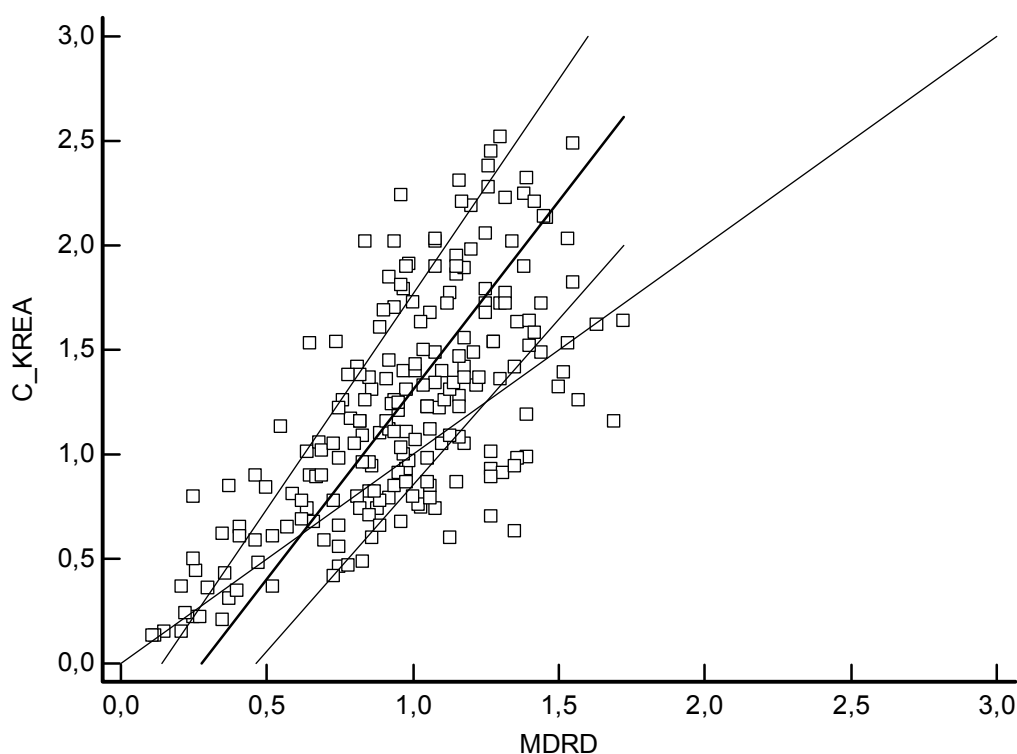
Všechny námi zvolené parametry jsme získali z laboratorního systému. Viz tabulka X. Pouze u hodnot vyšších než 1,5 ml/s u rovnice MDRD jsme museli použít internetové kalkulátory k zjištění hodnoty použitelné k srovnání.

4.5 Porovnání vypočítaných a odhadnutých metod stanovení GF

Získané hodnoty glomerulárních filtrací byly mezi sebou vzájemně porovnány. A sice s hodnotami glomerulárních filtrací, vypočítanými pomocí clearance endogenního kreatininu, byla porovnána metoda výpočtu glomerulární filtrace pomocí zjednodušeného MDRD vzorce. Stejným způsobem byla s hodnotami glomerulární filtrace endogenního kreatininu porovnána metoda výpočtu pomocí vzorce Lund-Malmö, dle Grubba i Cockcrofta a Gaulta. Nakonec byly mezi sebou porovnány i metody výpočtu pomocí MDRD a Lund-Malmö, Lund-Malmö s rovnicí dle Grubba. Porovnání bylo provedeno pomocí metody lineární regrese dle Passinga a Babloka a pomocí Bland Altmanova rozdílového grafu. Oba typy grafů byly zkonstruovány pomocí programu MedCalc, základní statistické hodnoty byly vypočítány také pomocí programu MedCalc. Histogramy byly pořízeny v programu QC.Expert.

4.5.1 Porovnání GF měřené dle clearance endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice MDRD

Graf 12. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice MDRD

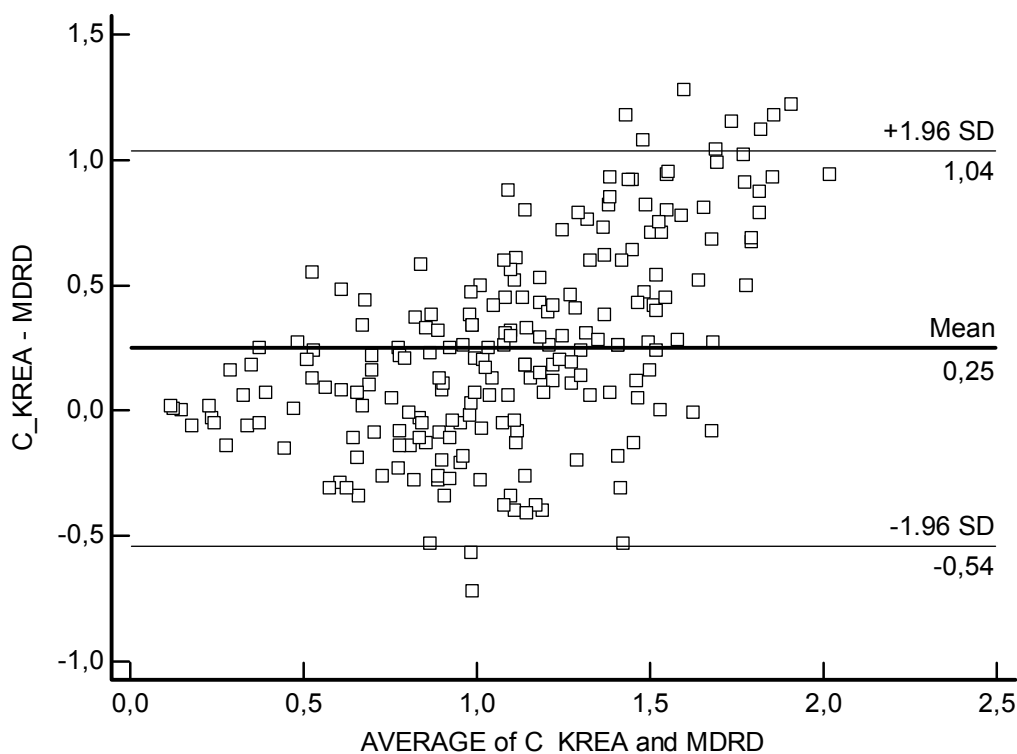


Tab. 6. Statistický souhrn mezi metodami clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice MDRD

	C KREA	MDRD
počet vzorků	212	212
nejnižší hodnota	0,1300	0,1100
nevyšší hodnota	2,5200	1,7200
aritmetický průměr	1,2176	0,9684
medián	1,1800	0,9800
směrodatná odchylka	0,5471	0,3381
rovnice regresní přímky y	$y = -0,4984 + 1,8101 x$	
intercept A	-0,4984	

95% CI	-0,7318 , -0,2903
slope B	1,8101
95% CI	1,5897 , 2,0577
korelační koeficient	0,6647 korelace střední

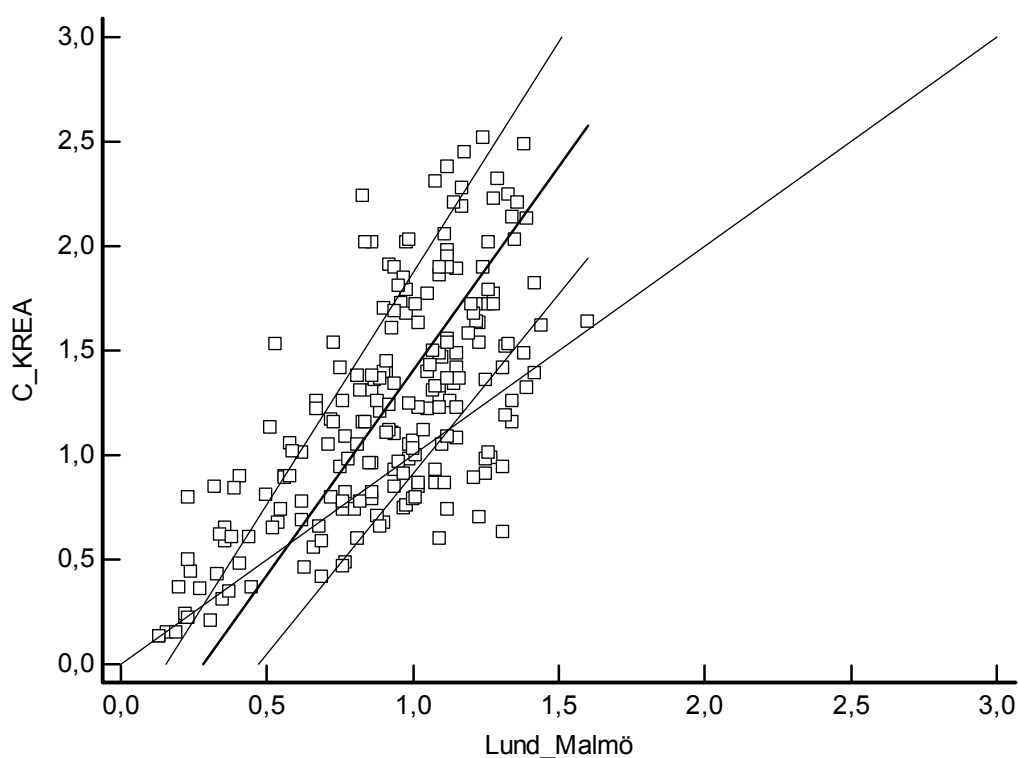
Graf 13. Bland – Altmanův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice MDRD



Je naprosto zjevné, že podle hodnoty korelačního koeficientu (0,6647) je mezi metodami poměrně slabá těsnost lineární závislosti. Jinými slovy byla mezi oběma metodami zjištěna jen slabá, přímá (kladná) statistická závislost. Na základě této charakteristiky lze tvrdit, že výsledky metod jsou od sebe významně statisticky odlišné (95% konfidenční interval interceptu nezahrnuje 0 a 95% konfidenční interval směrnice nezahrnuje 1).

4.5.2 Porovnání GF měřené dle clearance endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Lund-Malmö

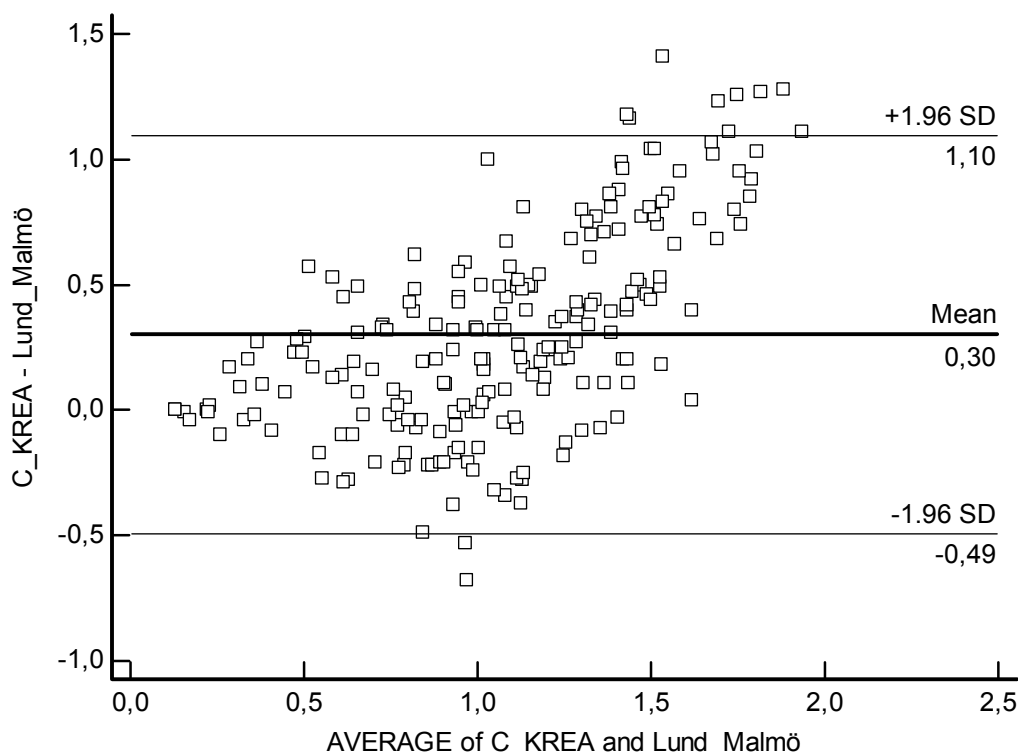
Graf 14. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Lund-Malmö



Tab. 7. Statistický souhrn mezi metodami clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Lund-Malmö

	C KREA	Lund-Malmö
počet vzorků	212	212
nejnižší hodnota	0,1300	0,1300
nevyšší hodnota	2,5200	1,6000
aritmetický průměr	1,2176	0,9157
medián	1,1800	0,9700
směrodatná odchylka	0,5471	0,3190
rovnice regresní přímky y	$y = -0,5505 + 1,9535 x$	
intercept A	-0,5505	
95% CI	-0,8143 , -0,3451	
slope B	1,9535	
95% CI	1,7215 , 2,2143	
korelační koeficient	0,6526 korelace střední	

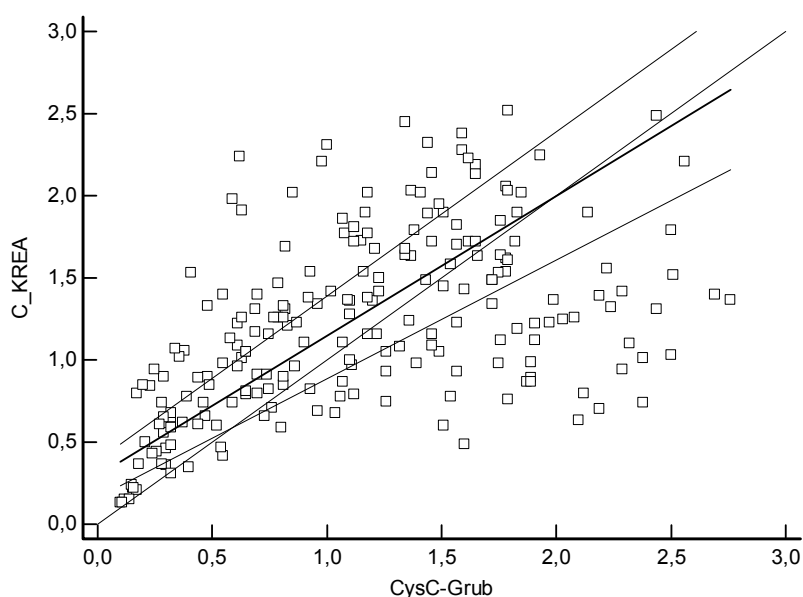
Graf 15. Bland – Altmanův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Lund-Malmö



Hodnota korelačního koeficientu je 0,6526. Výsledky metod jsou od sebe významně statisticky odlišné (95% konfidenční interval interceptu nezahrnuje 0 a 95% konfidenční interval směrnice nezahrnuje 1). Porovnávané metody mají mezi sebou jen malý lineární vztah.

4.5.3 Porovnání GF měřené dle clearance endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Grubba

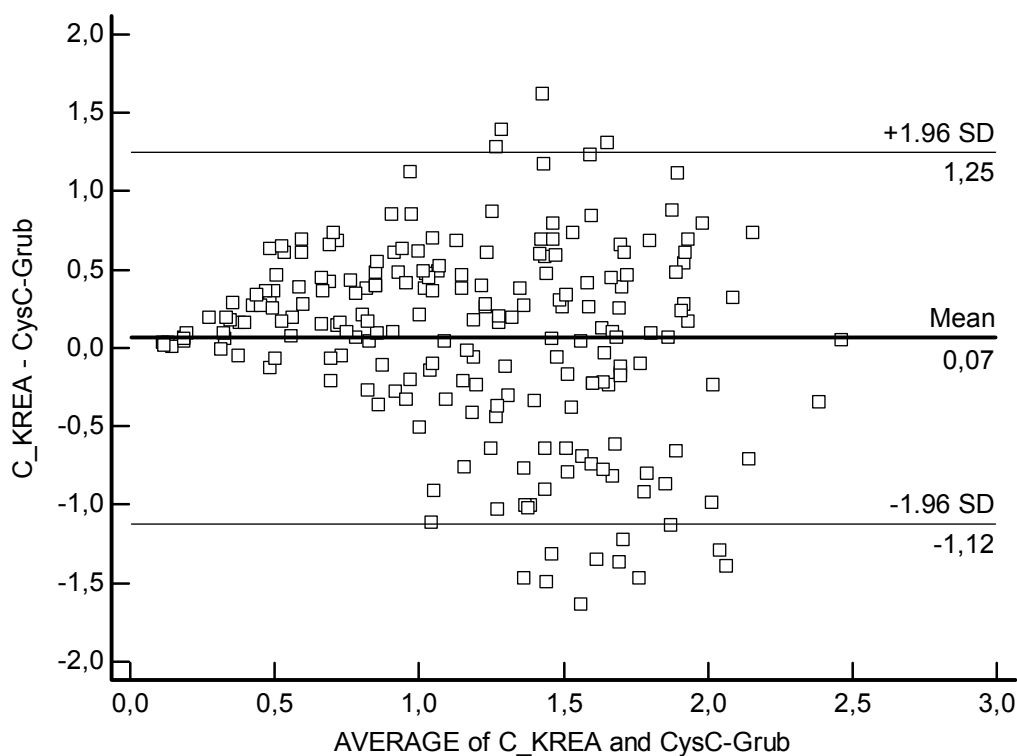
Graf 16. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Grubba



Tab.8. Statistický souhrn mezi metodami clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Grubba

	C KREA	GF cys. C
počet vzorků	212	212
nejnižší hodnota	0,1300	0,1000
nevyšší hodnota	2,5200	2,7600
aritmetický průměr	1,2176	1,1505
medián	1,1800	1,1150
směrodatná odchylka	0,5471	0,6573
rovnice regresní přímky y	$y = 0,2916 + 0,8529 x$	
intercept A	0,2916	
95% CI	0,1600 , 0,3893	
slope B	0,8529	
95% CI	0,7232 , 1,0000	
korelační koeficient	0,5446 korelace střední	

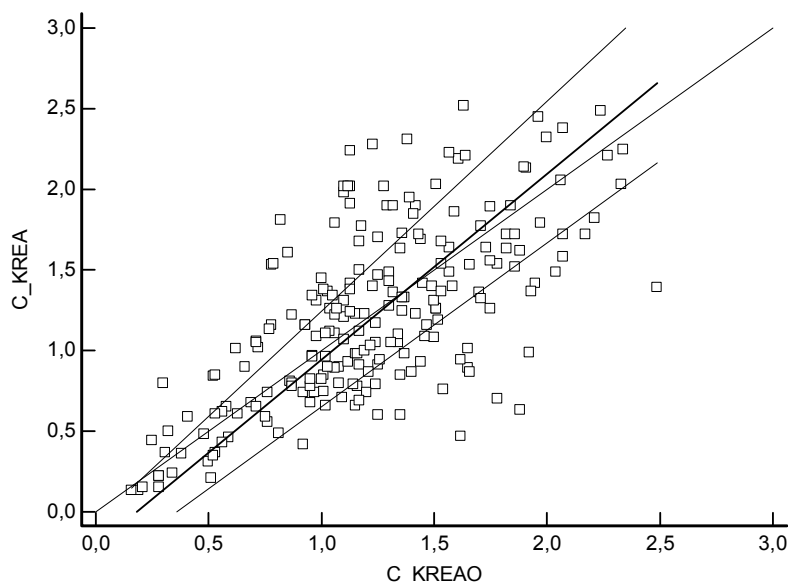
Graf 17. Bland – Altmanův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Grubba



Interpretace výsledků je zde obdobná jako u předešlých srovnání. 95% konfidenční interval interceptu nezahrnuje 0, ale 95% konfidenční interval směrnice hraničně zahrnuje 1. Z hodnoty korelačního koeficientu 0,5446 je zřejmá ještě slabší lineární závislost mezi oběma metodami.

4.5.4 Porovnání GF měřené dle clearance endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Cockcrofta a Gaulta

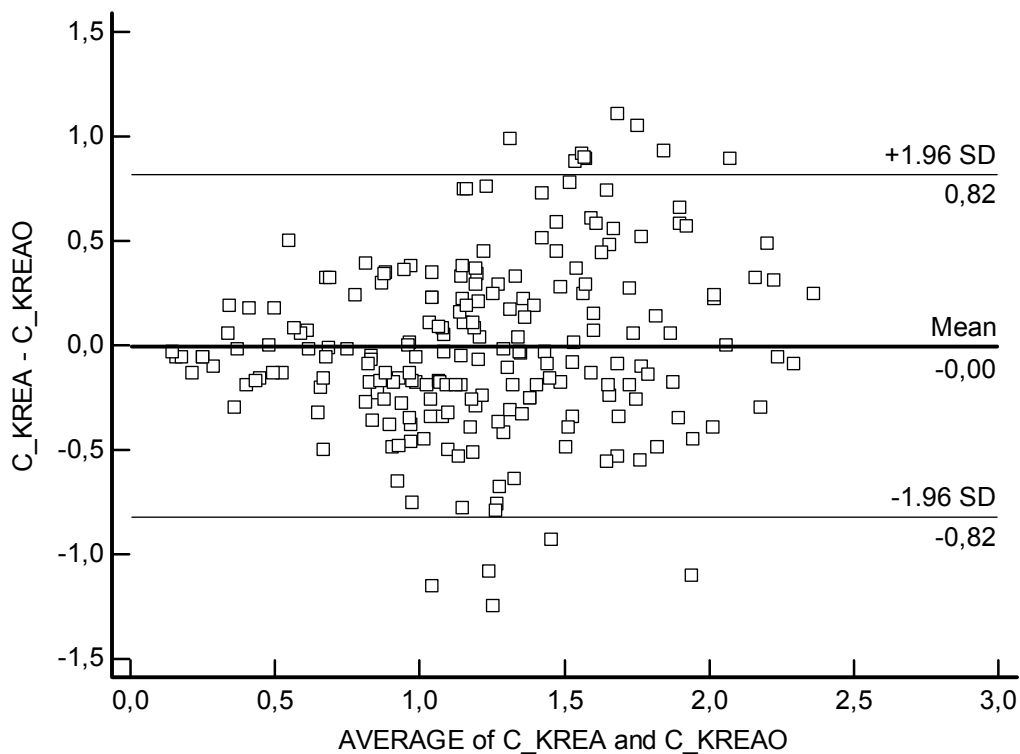
Graf 18. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Cockcrofta a Gaulta



Tab.9. Statistický souhrn mezi metodami clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Cockcrofta a Gaulta

	C KREA	C KREA O
počet vzorků	212	212
nejnižší hodnota	0,1300	0,1600
nevyšší hodnota	2,5200	2,4900
aritmetický průměr	1,2176	1,2213
medián	1,1800	1,1850
směrodatná odchylka	0,5471	0,4801
rovnice regresní přímky y	$y = -0,2069 + 1,1502 x$	
intercept A	-0,2069	
95% CI	-0,3615 , -0,06336	
slope B	1,1502	
95% CI	1,0156 , 1,3043	
korelační koeficient	0,6502 korelace střední	

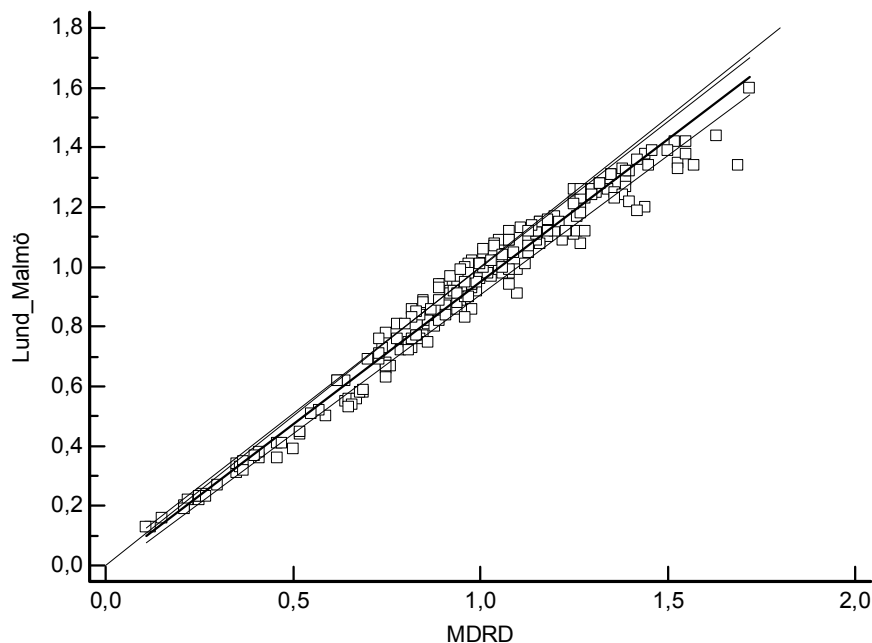
Graf 19. Bland – Altmanův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Cockcrofta a Gaulta



Opět stejný závěr. Mezi porovnávanými metodami existuje jen malá lineární závislost (95% konfidenční interval interceptu nezahrnuje 0 a 95% konfidenční interval směrnice nezahrnuje 1).

4.5.5 Porovnání GF odhadnuté dle rovnice MDRD a rovnice Lund-Malmö

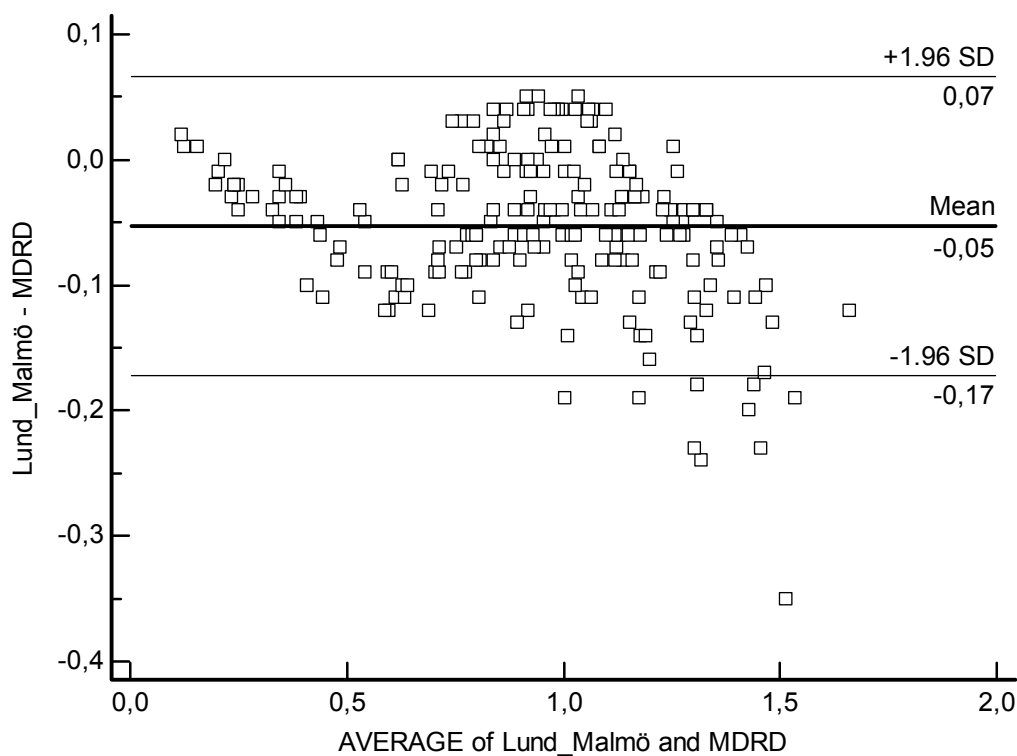
Graf 20. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi rovnicí MDRD a rovnicí Lund-Malmö



Tab.10. Statistický souhrn mezi metodami MDRD a rovnicí Lund-Malmö

	MDRD	Lund-Malmö
počet vzorků	212	212
nejnižší hodnota	0,1100	0,1300
nevyšší hodnota	1,7200	1,6000
aritmetický průměr	0,9684	0,9157
medián	0,9800	0,9700
směrodatná odchylka	0,3381	0,3190
rovnice regresní přímky y	$y = -0,006818 + 0,9545 x$	
intercept A	-0,006818	
95% CI	-0,02720 , 0,01586	
slope B	0,9545	
95% CI	0,9310 , 0,9800	
korelační koeficient	0,9830 korelace velmi silná	

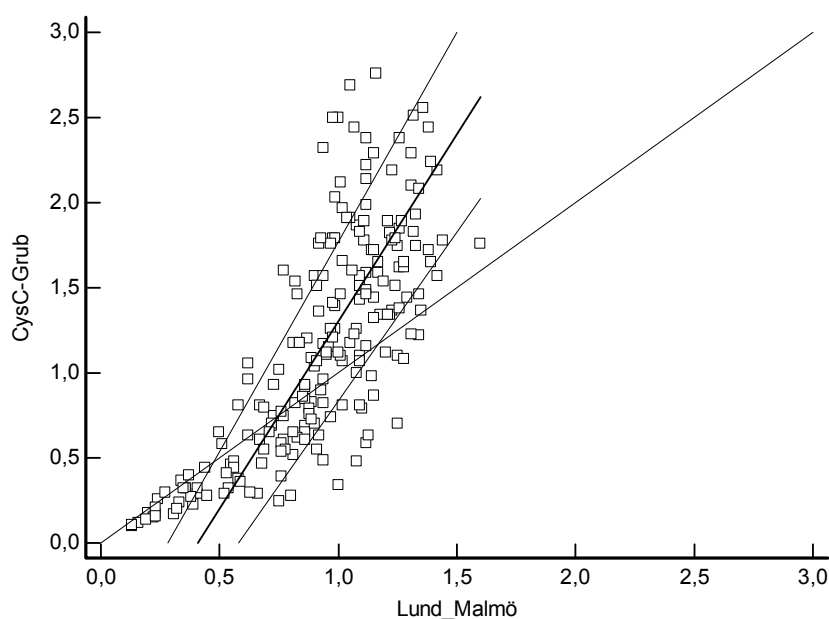
Graf 21. Bland – Altmanův graf vyjadřující vztah mezi MDRD a rovnicí Lund-Malmö



Podle hodnoty korelačního koeficientu, která činí 0,9830 je zde zřejmá poměrně silná lineární závislost mezi oběma metodami. Lze říci, že obě metody neposkytují statisticky významně odlišné hodnoty výsledků (95% konfidenční interval interceptu zahrnuje 0 a 95% konfidenční interval směrnice sice nezahrnuje 1, ale průběh regresní křivky svědčí pro shodu). Proto jsou tyto metody mezi sebou srovnatelné.

4.5.6 Porovnání GF odhadnuté dle rovnice Lund-Malmö a rovnice Grubba

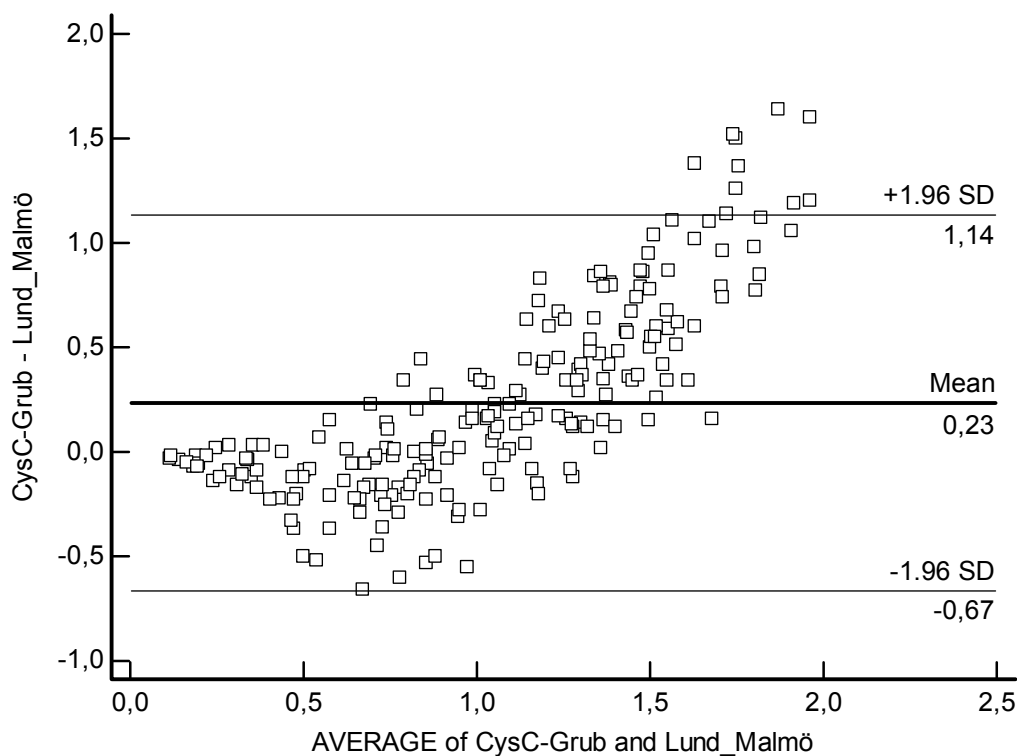
Graf 22. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi rovnicí Lund-Malmö a rovnicí Grubba



Tab.11. Statistický souhrn mezi metodami Lund-Malmö a rovnicí Grubba

	Lund-Malmö	GF cys. C
počet vzorků	212	212
nejnižší hodnota	0,1300	0,1000
nevyšší hodnota	1,6000	2,7600
aritmetický průměr	0,9157	1,1505
medián	0,9700	1,1150
směrodatná odchylka	0,3190	0,6573
rovnice regresní přímky y	$y = -0,8970 + 2,2000 \cdot x$	
intercept A	-0,8970	
95% CI	-1,1476 , -0,6908	
slope B	2,2000	
95% CI	1,9811 , 2,4625	
korelační koeficient	0,7898 korelace silná	

Graf 23. Bland – Altmanův graf vyjadřující vztah mezi Lund-Malmö a rovnici Grubba



I tyto srovnávané metody poskytují statisticky odlišné výsledky. Podle hodnoty korelačního koeficientu (0,7898) lze však odečíst určitou lineární závislost. 95% konfidenční interval interceptu nezahrnuje 0 a 95% konfidenční interval směrnice nezahrnuje 1.

4.6 Srovnání vlivu metody použité k odhadu GF na klinickou klasifikaci chronické renální insuficience dle KDOQI

Tab.12. Stadia chronického onemocnění ledvin /28/

Stadia chronického onemocnění ledvin		
Stadium	Popis	Glomerulární filtrace (ml/s/1.73m ²)
1	Poškození ledvin s normální nebo vyšší GF	>1,5
2	Poškození ledvin s mírným snížením GF	1-1,49
3	Mírné snížení GF	0,5-0,99
4	Těžké snížení GF	0,25-0,49
5	Selhání ledvin	<0,25 nebo dialýza

Tab.13. Klasifikace KDOQI dle GF z clearance kreatininu

skupina	rozmezí GF	% zastoupení
1	>1,5	29,25%
2	1,0 - 1,5	32,08%
3	0,5 - 0,99	28,77%
4	0,25 - 0,49	6,13%
5	<0,25	3,77%

Tab.14. Klasifikace KDOQI dle GF z cystatinu C

skupina	rozmezí GF	% zastoupení
1	>1,5	32,55%
2	1,0 - 1,5	23,11%
3	0,5 - 0,99	24,06%
4	0,25 - 0,49	13,21%
5	<0,25	7,08%

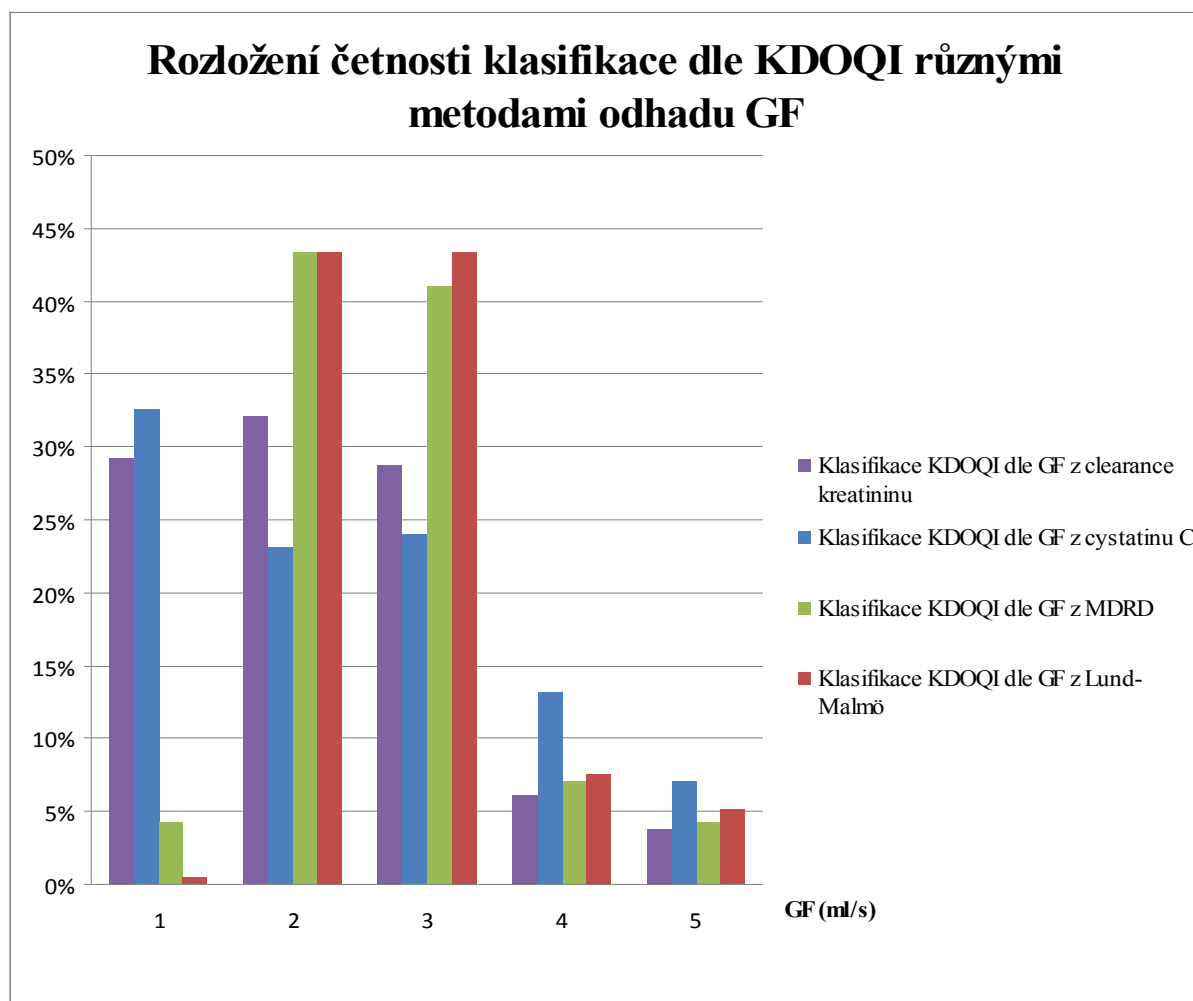
Tab.15. Klasifikace KDOQI dle GF z MDRD

skupina	rozmezí GF	% zastoupení
1	>1,5	4,25%
2	1,0 - 1,5	43,40%
3	0,5 - 0,99	41,04%
4	0,25 - 0,49	7,08%
5	<0,25	4,25%

Tab.16. Klasifikace KDOQI dle GF z Lund-Malmö

skupina	rozmezí GF	% zastoupení
1	>1,5	0,47%
2	1,0 - 1,5	43,40%
3	0,5 - 0,99	43,40%
4	0,25 - 0,49	7,55%
5	<0,25	5,19%

Graf 24. Rozložení četnosti klasifikace dle KDOQI různými metodami odhadu GF



Při porovnání výsledků z grafu 24. mám vyplynou zajímavé výsledky. Odhad glomerulární filtrace ze sérového cystatinu C (rovnice dle Grubba) se nejvíce přibližuje glomerulární filtraci stanovenou clearancí kreatininu při určení stádia chronického onemocnění ledvin. Výpočtové rovnice (MDRD, Lund-Malmö) poskytují téměř totožné výsledky.

5 Diskuze

Na základě námi použitých statistických metod bylo zjištěno, že metodu clearance endogenního kreatininu, nelze porovnat ani jednu zvolenou metodu (MDRD, Lund-Malmö, Cockcrofta a Gaulta ani odhad z cystatinu C dle Grubba), protože poskytují statisticky významně odlišné hodnoty. Je třeba vzít v úvahu, že výsledné rozdíly mezi jednotlivými metodami jsou zapříčiněny několika faktory.

Největší zdroj chyb u stanovení glomerulární filtrace metodou clearance endogenního kreatininu je bezesporu sběr moči, resp. údaj o množství moči. Pokud je hodnota glomerulární filtrace postavena na základě špatně udaného množství moče, není v možnostech laboratoře tuto chybu odstranit, protože musíme věřit uvedeným hodnotám na laboratorních žádankách. Jsme zcela odkázáni na ošetřující personál (v případě, že pacient leží v nemocnici), nebo na samotného pacienta. To je také jeden z důvodů, proč je doporučováno používat metody výpočtu glomerulární filtrace bez sběru moči.

Otázkou je zda by mohl mít věk pacientů vliv na námi zjištěné výsledky. Měli jsme 158 pacientů (74,53%) starších 40 let. U pacientů nad 40 let postupně pozvolný pokles glomerulární filtrace.

106 pacientů (50%) pocházelo z revmatologické ambulance. Zde by se dala hledat další příčina ovlivnění výsledků. Hrozí zde pravděpodobně ovlivnění výsledků léčbou pacientů.

Musíme mít na paměti i fakt, že hodnoty glomerulární filtrace určené clearancí endogenního kreatininu, jsou mírně nadhodnoceny vlivem tubulární sekrece kreatininu přibližně o 10%.

Jedna z dalších možností ovlivnění výsledků stanovení hladiny sérového kreatininu je princip stanovení. V naší laboratoři je používána z ekonomických důvodů standardizovaná Jaffého metoda (mohou reagovat též Jaffě-pozitivními chromogeny).

Dalším zdrojem možných chyb může být také to, že rovnice MDRD je nevhodná k použití, v hodnotách glomerulární filtrace nad $1,5 \text{ ml/s/1,73m}^2$ vykazuje jistou nepřesnost. Nad tuto hodnotu jsme měli 10 hodnot. Což činí 4,72% z celkového počtu.

Dalším zdrojem možných chyb může být také to, že rovnice dle Grubba by se měla používat v hodnotách glomerulární filtrace nad 0,3 ml/s. Pod tuto hodnotu jsme měli 24 pacientů což je 11,32%.

6 Závěr

V rámci bakalářské práce se podařilo splnit všechny uvedené cíle. Po důkladném prostudování literatury jsme přistoupili ke sběru dat. Vybraná data jsme analyzovali programy MedCalc, QC Expert a Microsoft Office Excel. Závěrem bakalářské práce nezbyvá než konstatovat, že metody porovnávané s clearancí endogenního kreatininu dávají statisticky odlišné hodnoty. Je zde patrná slabá lineární závislost. Při porovnání metod MDRD a Lund-Malmö jsme prokázali velkou lineární závislost. Odhad glomerulární filtrace ze sérového cystatinu C (rovnice dle Grubba) se nejvíce přibližuje glomerulární filtraci stanovenou clearancí kreatininu při určení stádia chronického onemocnění ledvin. Výpočtové metody odhadu GF ze sérového kreatininu nejsou optimálně citlivé na změny ve vyšších hodnotách GF ($> 1 \text{ ml/s}$), protože jsou obvykle odvozeny z dat pacientů s chronickou renální insuficiencí. Proto jsme našli tak významnou diskrepanci mezi zařazením do jednotlivých kategorií dle KDOQI a v hodnotách GF $> 1 \text{ ml/s}$ se jeví odhad GF dle cystatinu C jako vhodnější metoda.

Seznam zkratk:

PAH - kyselina paraaminohippurové
ADP - adenosindifosfát
NAD - nikotinamidadenindinukleotid (oxidovaná forma)
NADH - nikotinamidadenindinukleotid (redukována forma)
GF - glomerulární filtrace
 C_{in} – clearance inulinu
 C_{kr} – clearance kreatininu
 S_{kr} – sérová koncentrace kreatininu $\mu\text{mol/l}$
MDRD - (Modification of Diet in Renal Disease)
GF – glomerulární filtrace
eGFR – odhad glomerulární filtrace
 S_{CysC} - koncentrace cystatinu C v séru mg/l
 qS_{LuMa} - glomerulární filtrace pomocí rovnice Lund-Malmö ml/s
 qS_{GFCy} - glomerulární filtrace z cystatinu C ml/s
 C_{KREO} – odhad clearance kreatininu ml/s

Seznam obrázků:

Obr.1. Glomerulus e elektronovém mikroskopu /18/	12
Obr.2. Glomerulus a Bowmanovo pouzdro /19/	12
Obr.3. Nefron a sběrný kanálek /21/	14
Obr.4. Juxtaglomerulární aparát /19/	15
Obr.5. Cévní systém ledvin /19/	17
Obr.6. Uspořádání podocytů a kapiláry v renálním tělísku /20/	20
Obr.7. Struktura inulinu /26/	32
Obr.8. Clearance inulinu /19/	35
Obr.9. Vzorec kreatininu /23/	35
Obr.10. Závislost koncentrace kreatininu při klesající hodnotě clearance kreatininu /24/	36
Obr.11. Molekula cystatinu C /25/	40
Obr.12. Vzorec iohexolu /27/	42

Seznam tabulek:

Tab.1. Referenční meze kreatininu v séru /38/	36
Tab.2. Referenční meze – PENIA	41
Tab.3. Referenční meze – PETIA	41
Tab.4. Zastoupení pohlaví ve vybraném vzorku pacientů	48
Tab.5. Základní statistická data souboru pacientů	48
Tab.6. Statistický souhrn mezi metodami clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice MDRD	56
Tab.7. Statistický souhrn mezi metodami clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Lund-Malmö	58
Tab.8. Statistický souhrn mezi metodami clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Grubba	60
Tab.9. Statistický souhrn mezi metodami clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Cockcrofta a Gaulta	61
Tab.10. Statistický souhrn mezi metodami MDRD a rovnicí Lund-Malmö	63

Tab.11. Statistický souhrn mezi metodami Lund-Malmö a rovnicí Grubba	64
Tab.12. Stadia chronického onemocnění ledvin /28/	65
Tab.13. Klasifikace KDOQI dle GF z clearance kreatininu	66
Tab.14. Klasifikace KDOQI dle GF z cystatinu C	66
Tab.15. Klasifikace KDOQI dle GF z MDRD	66
Tab.16. Klasifikace KDOQI dle GF z Lund-Malmö	66
Tab.17. Zdrojová data	74

Seznam grafů

Graf 1. Rozložení pacientů dle věku	48
Graf 2. Rozložení pacientů dle diurézy	49
Graf 3. Rozložení pacientů dle výšky	49
Graf 4. Rozložení pacientů dle hmotnosti	50
Graf 5. Rozložení pacientů dle hodnot sérového kreatininu (standardizovaná Jaffého metoda)	50
Graf 6. Rozložení pacientů dle hodnot sérového cystatinu C	51
Graf 7. Rozložení pacientů dle odhadu pomocí rovnice MDRD	52
Graf 8. Odhad glomerulární filtrace dle rovnice Lund-Malmö	52
Graf 9. Odhad glomerulární filtrace z cystatinu C dle Grubba	53
Graf 10. Odhad glomerulární filtrace Cockcrofta a Gaulta	54
Graf 11. Clearance endogenního kreatininu	54
Graf 12. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice MDRD	56
Graf 13. Bland–Altmanův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice MDRD	57
Graf 14. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Lund-Malmö	58
Graf 15. Bland–Altmanův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Lund-Malmö	59
Graf 16. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Grubba	59
Graf 17. Bland–Altmanův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Grubba	60
Graf 18. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Cockcrofta a Gaulta	61
Graf 19. Bland–Altmanův graf vyjadřující vztah mezi clearancí endogenního kreatininu s výpočtem dle rovnice Cockcrofta a Gaulta	62
Graf 20. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi rovnicí MDRD a rovnicí Lund-Malmö	62
Graf 21. Bland–Altmanův graf vyjadřující vztah mezi MDRD a rovnicí Lund-Malmö	63
Graf 22. Passing–Bablokův graf vyjadřující vztah mezi rovnicí Lund-Malmö a rovnicí Grubba	64
Graf 23. Bland–Altmanův graf vyjadřující vztah mezi Lund-Malmö a rovnicí Grubba	65
Graf 24. Rozložení četnosti klasifikace dle KDOQI různými metodami odhadu GF	67

7 Použita literatura

1. Kolektiv Fyziologického ústavu Nárys fyziologie člověka Sešit III.B.
1999 Nakladatelství Karolínium UK v Praze ISBN 80-7184-318-0
2. Vladimír Tesař et al Klinická nefrologie
2006 Avicenum Praha ISBN 80-247-0503-6 str. 25 – 61, 179–247, 528
3. Jindřich Mourek Fyziologie Učebnice pro studenty zdravotnických oborů
2005 ISBN 80-247-1190-7
4. Stefan Silbernagl Atlas patofyziologie člověka
Avicenum 2001 ISBN 80-7169-968 -3 str. 92
5. Ota Schück Funkční vyšetřování ledvin 2. vydání
Avicenum 1979 08-029-79 str. 118–155
6. Ladislav Rejman Slovník cizích slov
SPN Praha 1966 SPN 08-91-003
7. Jan Kábrt, Vladislav Valach Stručný lékařský slovník
1979 Avicenum Praha 08-004-79
8. Vladimíra Kvasnicová, Stanovení kreatininu
http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS3/hypertext/KVAES.htm 18.4.2011
9. Jaroslav Masopust-Klinická biochemie – Požadování a hodnocení biochemických vyšetření
Karolínium 1998 ISBN 80-7184-648-1 str. 215-219
10. Jabor Antonín Vnitřní prostředí
Grada 2008 ISBN 978-80-247-1221-5 str. 145 - 236
11. Informace o inulinu
<http://cs.wikipedia.org/wiki/Inulin> 16.4.2011
12. Zima Tomáš, Laboratorní diagnostika – druhé, doplněné a přepracované vydání
Galén 2007 ISBN 978-80-7262-372-3
13. Teplan Vladimír, Posuzování renálních funkcí
<http://www.stapro.cz/bullfons/42008/klin1.pdf> 16.4.2011
14. Zima Tomáš et. al, Doporučení České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie ČLS JEP k vyšetřování glomerulární filtrace
<http://www.cskb.cz/res/file/doporuzeni/dopGFR.pdf> 16.4.2011
15. Teplan Vladimír, Infekce ledvin a močových cest v dospělém a dětském věku
<http://books.google.cz/books?id=ixhM65QOvDwC&pg=PA206&lpg=PA206&dq=clearance+iohexolu&source=bl&ots=jx9xO9CG-5&sig=7VfSH3MaADJyVdXRjwoHoZEtgwo&hl=cs&ei=zFmpTZiCCczOswbIjtG7BQ&sa=>

[X&oi=book_result&ct=result&resnum=7&ved=0CEAQ6AEwBg#v=onepage&q=clearance%20iohexolu&f=false](http://www.cesradiol.cz/070516_inzOmnipaque.pdf) 16.4.2011

16. Omnipaque

http://www.cesradiol.cz/070516_inzOmnipaque.pdf 16.4.2011

17. Kalkulátor pro výpočet GF

http://www.naskl.cz/vzdelavani/kalkulatory/GFR-Lund-Malmo/GFR_Cr.htm

18. Glomerulus e elektronovém mikroskopu

<http://www.kidney-hypertension.com/the-kidney.htm> 15.4.2011

19. Stefan Silbernagl, Atlas fyziologie člověka - 6.zcela přepracované a rozšířené
Grada 2004 ISBN: 80-247-0630-X

20. Doc. PharmDr. Petr Nachtigal, Ph.D. Anatomie vylučovací systém- přednáška

<http://www.faf.cuni.cz/studium/Materialy/Katedra%20biologických%20a%20lékařských%20věd/Základy%20anatomie%20a%20fyziologie%20člověka/Přednášky/Anatomie%20vylučovací%20systém.pdf> 15.4.2011

21. Frank H. Netter Anatomický atlas člověka překlad třetího rozšířeného vydání
Grada, 2005 ISBN 80-247-1153-2 str. 325

23. Vladimíra Kvasnicová, Vzorec kreatininu

http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS3/hypertext/AJDJX.htm 18.4.2011

24. Jaroslav Racek et al. Klinická biochemie Galén 1999 ISBN 80-7262-023-1 str. 214

25. Molekula cystatinu C

<http://www.abbottdiagnostics.sk/nove-produkty/rok-2008/klinicka-biochemia/cystatin-c.html> 18.4.2011

26. Struktura inulinu /26/

<http://cs.wikipedia.org/wiki/Inulin> 16.4.2011

27. Vzorec iohexolu /27/

http://www.google.cz/imgres?imgurl=http://images.ddccdn.com/img/mol/DB01362.mol.t.jpg&imgrefurl=http://www.drugs.com/ingredient/iohexol.html&usq=__yc2TYuKANnR8uoZW_M_GLfZXzrMQ=&h=280&w=280&sz=19&hl=cs&start=67&zoom=1&itbs=1&tbnid=EgTDQUAHVcLFgM:&tbnh=114&tbnw=114&prev=/search%3Fq%3Diohexol%26start%3D60%26hl%3Dcs%26lr%3Dlang_cs%26sa%3DDN%26prmdo%3D1%26ndsp%3D20%26tbs%3Dlr:lang_1cs%26tbn%3Disch&ei=QGSPTZnjN5HJsgavpdGvBw 16.4.2011

28. Roman Kantor, Stádia chronického onemocnění ledvin

<http://old.ledviny.cz/metodika/ckd.html> 18.4.2011

29. Vladimíra Kvasnicová, Kreatinin

<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=588> 18.4.2011

30. Narayanan S. et. al, Clinical Chemistry 26/8, 1119-1126 (1980)
<http://www.clinchem.org/cgi/reprint/26/8/1119> 18.4.2011
31. Isidor Greenwald, The Chemistry of Jaffe's Reaction for Creatinine
<http://www.jbc.org/content/86/1/333.full.pdf+html?sid=c96781ff-e592-49e9-9b30-1d39ebe7944e> (18.4.2011)
32. Reginald M. Archibald Reactions of Creatinine with Alkaline Picrate
<http://www.jbc.org/content/237/2/612.full.pdf+html?sid=f8534603-2a07-4ebd-b172-2231fad39164> (18.4.2011)
33. Isidor Greenwald, The Chemistry of Jaffe's Reaction for Kreatinine. A Red Tautomer of Creatinine Picrate
<http://www.jbc.org/content/59/3/601.full.pdf+html?sid=c96781ffe592-49e9-9b30-1d39ebe7944e> (18.4.2011)
34. Lothar T., Clinical Laboratory Diagnostics
 TH-Books, Frankfurt/Main (1998) ISBN 3-9805215-4-0 str. 366-371
35. Tietz: Fundamentals of Clinical Chemistry ,6th Edition
 (2008) str. 363-366 ISBN 978-0-7216-3865-2
36. Saenger A. et. al Clinical Chemistry 55:9 1732-1736 (2009)
<http://www.clinchem.org/cgi/content/full/55/9/1732> 20.4.2011
37. Miroslava Gabzdyllová, Cystatin C
www.dialab.cz/data/sharedfiles/Prednasky_z...akci/M_Gabzdyllova.ppt 18.4.2011
38. Vladimíra Kvasnicová, Kreatinin
http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS4/hypertext/KVAES.htm 18.4.2011
39. Levey , The CKD-EPI Creatinine Equation
http://nephron.com/epi_equation 20.4.2011
40. Vincent Rigalleau et. al, The Mayo Clinic quadratic equation improves the prediction of glomerular filtration rate in diabetic subjects
<http://ndt.oxfordjournals.org/content/22/3/813.full.pdf> 20.4.2011
41. KDOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification
 PART 5. EVALUATION OF LABORATORY MEASUREMENTS FOR CLINICAL ASSESSMENT OF KIDNEY DISEASE
http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines_ckd/p5_lab_g4.htm 20.4.2011
42. Zima Tomáš, Vyšetření glomerulární filtrace
<http://www.cskb.cz/res/file/biolaby/2010/1-Zima.pdf> 20.4.2011

PŘÍLOHA

Tab. 17. Zdrojová data

Pořadí	Věk	Pohlaví	S_KREA umol/l	S_CysC mg/l	MDRD zkr. ml/s	qS_LuMa ml/s	qS_GFCy ml/s	C_KREO ml/s	C_KREA ml/s
1	66	muž	108	1,61	0,99	0,92	0,63	1,13	1,91
2	59	žena	59	0,77	1,57	1,34	2,08	1,75	1,26
3	55	muž	75	0,87	1,63	1,44	1,78	1,88	1,62
4	46	žena	50	0,85	1,72	1,60	1,76	1,73	1,64
5	80	žena	95	1,62	0,82	0,76	0,59	0,76	0,74
6	52	muž	218	2,56	0,46	0,41	0,29	0,66	0,90
7	66	muž	231	2,41	0,41	0,36	0,32	0,58	0,65
8	64	muž	95	1,16	1,16	1,09	1,10	1,30	1,28
9	49	muž	167	1,94	0,64	0,55	0,46	0,97	0,74
10	78	muž	106	1,53	0,98	0,86	0,69	0,98	1,31
11	76	žena	258	3,08	0,26	0,24	0,26	0,25	0,44
12	82	muž	338	3,59	0,25	0,22	0,16	0,28	0,22
13	58	muž	85	0,85	1,34	1,26	1,85	1,28	2,02
14	74	žena	274	3,42	0,25	0,23	0,17	0,30	0,80
15	34	žena	75	0,98	1,25	1,26	1,38	1,97	1,79
16	36	muž	90	0,83	1,38	1,33	1,93	2,34	2,25
17	61	muž	133	1,53	0,79	0,72	0,69	1,24	1,17
18	84	žena	305	3,90	0,21	0,19	0,14	0,21	0,15
19	87	žena	154	2,36	0,46	0,36	0,32	0,41	0,59
20	37	muž	103	0,70	1,18	1,15	2,29	1,95	1,42
21	55	žena	596	4,49	0,11	0,13	0,11	0,16	0,13
22	72	muž	540	4,37	0,15	0,16	0,12	0,28	0,15
23	53	muž	89	1,16	1,30	1,25	1,10	1,70	1,36
24	31	muž	108	1,41	1,16	1,10	0,79	1,25	1,47
25	65	muž	268	3,53	0,35	0,31	0,17	0,51	0,21
26	54	muž	133	1,21	0,81	0,75	1,02	1,13	1,42
27	46	žena	218	2,14	0,35	0,34	0,37	0,56	0,62
28	75	žena	132	2,48	0,57	0,52	0,29	0,71	0,65
29	51	muž	128	1,82	0,86	0,81	0,52	1,25	0,60
30	63	muž	116	1,59	0,92	0,86	0,65	1,24	0,79
31	42	muž	132	1,38	0,86	0,82	0,82	1,10	1,31
32	42	žena	66	0,68	1,42	1,36	2,56	2,27	2,21
33	74	žena	77	1,06	1,06	0,98	1,21	1,17	1,68
34	34	muž	126	1,37	0,95	0,89	0,83	1,10	1,21
35	74	žena	268	3,02	0,25	0,23	0,21	0,32	0,50
36	85	žena	243	3,54	0,27	0,23	0,16	0,28	0,22
37	38	žena	105	1,13	0,85	0,89	1,09	1,03	1,37
38	77	muž	651	4,73	0,12	0,13	0,10	0,19	0,13
39	50	žena	103	1,25	0,82	0,86	0,92	1,13	1,38
40	33	žena	72	1,05	1,35	1,31	1,23	1,45	1,42

41	70	žena	235	2,43	0,30	0,27	0,30	0,38	0,36
42	80	muž	188	2,36	0,50	0,39	0,23	0,52	0,84
43	71	muž	415	3,37	0,21	0,20	0,18	0,31	0,37
44	43	muž	169	1,91	0,65	0,56	0,48	1,08	0,90
45	73	muž	125	1,46	0,82	0,73	0,75	0,78	1,16
46	49	žena	96	1,34	0,90	0,94	0,82	1,44	1,69
47	54	žena	185	2,60	0,41	0,38	0,27	0,53	0,61
48	55	žena	75	1,01	1,16	1,15	1,32	1,50	1,08
49	65	muž	93	0,97	1,18	1,10	1,49	1,34	1,05
50	68	muž	119	2,62	0,88	0,80	0,28	0,92	0,74
51	71	žena	82	1,12	0,99	0,95	1,11	0,96	0,97
52	56	žena	89	1,42	0,95	0,97	0,74	1,17	0,91
53	56	muž	157	1,99	0,67	0,56	0,44	1,06	0,89
54	64	žena	96	1,60	0,85	0,86	0,61	0,96	0,96
55	72	žena	137	1,64	0,55	0,51	0,58	0,77	1,13
56	56	muž	105	1,39	1,06	1,02	0,81	1,01	0,85
57	40	muž	127	1,10	0,91	0,87	1,20	1,32	1,36
58	59	muž	115	0,94	0,94	0,90	1,57	1,25	1,70
59	68	muž	137	2,54	0,75	0,66	0,29	0,76	0,56
60	60	muž	111	1,31	0,98	0,93	0,90	1,06	1,11
61	27	muž	125	1,76	1,10	0,91	0,55	1,58	1,40
62	38	žena	93	1,14	0,98	1,02	1,07	1,21	0,87
63	58	žena	97	1,40	0,85	0,88	0,76	1,09	0,71
64	67	žena	93	1,24	0,87	0,86	0,93	0,95	0,82
65	38	muž	86	0,89	1,44	1,38	1,72	2,04	1,49
66	66	muž	94	1,23	1,16	1,08	1,00	1,38	2,31
67	64	muž	154	2,41	0,66	0,54	0,32	0,69	0,68
68	76	muž	110	1,87	0,94	0,94	0,49	1,35	0,85
69	73	muž	97	1,07	1,10	0,99	1,26	1,24	1,05
70	68	muž	113	1,35	0,94	0,86	0,85	1,13	2,02
71	67	muž	123	1,46	0,85	0,77	0,75	1,00	0,82
72	70	žena	106	1,24	0,74	0,73	0,93	0,79	1,54
73	72	muž	89	1,39	1,22	1,09	0,81	1,37	1,33
74	80	muž	84	1,07	1,27	1,08	1,26	1,12	0,93
75	24	muž	133	1,63	0,96	0,83	0,62	1,13	2,24
76	64	žena	200	2,81	0,36	0,33	0,24	0,56	0,43
77	56	žena	109	1,70	0,75	0,78	0,55	1,16	0,98
78	56	muž	112	1,12	0,98	0,94	1,17	1,42	1,90
79	55	žena	106	1,08	0,78	0,81	1,18	1,01	1,38
80	60	muž	82	0,99	1,39	1,29	1,44	2,00	2,32
81	55	muž	111	1,13	1,00	0,96	1,15	1,36	1,73
82	53	muž	143	1,93	0,75	0,68	0,47	1,15	0,66
83	33	muž	128	1,41	0,94	0,88	0,79	1,51	1,26
84	62	žena	83	2,26	1,01	1,00	0,34	1,10	1,07
85	45	žena	81	1,56	1,11	1,13	0,63	1,51	1,26
86	55	žena	75	1,29	1,16	1,15	0,87	1,42	1,23
87	54	muž	88	1,52	1,31	1,25	0,70	1,25	0,91
88	38	žena	94	1,18	0,97	1,01	1,10	1,19	1,00
89	28	muž	107	1,68	1,20	1,12	0,59	1,10	1,98
90	67	muž	74	1,09	1,69	1,34	1,22	1,47	1,16
91	62	muž	96	1,18	1,15	1,09	1,07	1,59	1,86
92	67	žena	113	1,36	0,70	0,69	0,80	0,75	0,59

93	77	muž	134	2,50	0,75	0,63	0,30	0,59	0,46
94	69	muž	389	3,80	0,22	0,22	0,15	0,34	0,24
95	63	muž	190	2,01	0,52	0,44	0,44	0,63	0,61
96	84	žena	139	2,56	0,52	0,45	0,28	0,53	0,37
97	54	žena	205	2,35	0,37	0,35	0,32	0,50	0,31
98	54	žena	190	2,05	0,40	0,37	0,40	0,52	0,35
99	73	muž	122	1,56	0,64	0,62	0,63	0,62	1,01
100	73	muž	158	2,35	0,47	0,41	0,32	0,48	0,48
101	66	muž	81	0,84	1,39	1,27	1,89	1,92	0,99
102	32	muž	100	0,84	1,27	1,21	1,89	1,65	0,89
103	25	žena	90	0,70	1,13	1,07	2,44	1,50	1,31
104	41	žena	138	1,15	0,62	0,62	1,06	1,16	0,78
105	46	žena	98	0,72	0,89	0,94	2,32	1,34	1,10
106	65	muž	83	0,88	1,36	1,25	1,75	1,15	0,98
107	46	žena	88	0,66	1,01	1,05	2,69	1,49	1,40
108	22	žena	96	0,84	1,08	0,99	1,79	1,51	2,03
109	46	žena	83	0,71	1,08	1,12	2,38	1,20	0,74
110	46	žena	85	0,91	1,05	1,09	1,57	1,15	1,23
111	28	žena	68	0,70	1,55	1,38	2,44	2,24	2,49
112	41	žena	137	1,22	0,62	0,62	0,96	1,17	0,69
113	31	žena	72	0,83	1,39	1,32	1,83	1,52	1,19
114	72	muž	134	1,39	0,76	0,67	0,81	1,04	1,26
115	58	muž	99	0,96	1,13	1,09	1,51	1,35	0,60
116	43	žena	73	0,71	1,27	1,26	2,38	1,65	1,01
117	23	žena	96	1,11	1,06	1,00	1,12	1,14	0,79
118	65	muž	120	0,95	0,89	0,82	1,54	0,95	0,78
119	62	žena	84	0,76	1,00	1,01	2,12	1,08	0,80
120	82	žena	94	0,90	0,83	0,77	1,60	0,81	0,49
121	37	žena	96	0,69	0,96	1,00	2,50	1,22	1,03
122	66	muž	105	1,07	1,03	0,97	1,26	1,01	0,75
123	66	muž	103	1,01	1,05	0,99	1,39	1,37	0,98
124	25	muž	98	0,84	1,02	0,98	1,79	1,54	0,76
125	46	muž	95	0,86	1,25	1,22	1,82	2,07	1,72
126	26	muž	85	0,77	1,52	1,42	2,19	2,49	1,39
127	37	muž	89	0,82	1,05	1,08	1,87	1,40	0,87
128	59	muž	82	0,71	1,40	1,32	2,51	1,86	1,52
129	57	muž	98	0,84	1,15	1,11	1,89	1,66	0,87
130	68	žena	96	1,08	0,84	0,84	1,18	1,12	2,02
131	66	muž	111	1,20	0,96	0,90	1,04	0,95	0,68
132	57	muž	113	0,94	0,98	0,94	1,57	1,44	0,93
133	61	muž	173	1,59	0,59	0,50	0,65	0,86	0,81
134	57	muž	78	0,76	1,50	1,39	2,24	1,71	1,32
135	66	žena	92	1,44	0,89	0,89	0,73	1,02	0,66
136	55	muž	90	0,87	1,28	1,23	1,78	1,78	1,54
137	54	žena	77	0,86	1,14	1,14	1,72	1,05	1,34
138	81	žena	105	1,69	0,73	0,69	0,55	0,92	0,42
139	76	žena	191	3,14	0,37	0,32	0,20	0,53	0,85
140	64	žena	98	1,30	0,83	0,85	0,86	1,02	0,96
141	57	muž	153	1,39	0,69	0,58	0,81	1,03	0,90
142	72	žena	102	1,72	0,78	0,76	0,54	1,62	0,47
143	46	žena	86	1,84	1,04	1,08	0,48	1,36	1,33
144	50	žena	115	2,09	0,73	0,76	0,39	0,87	0,78

145	25	žena	86	0,74	1,18	1,12	2,22	1,75	1,56
146	32	žena	89	0,96	1,08	1,09	1,43	1,57	1,49
147	65	žena	90	0,85	0,92	0,92	1,76	1,04	1,12
148	75	muž	126	1,52	0,81	0,72	0,70	0,87	0,80
149	48	muž	93	0,77	1,27	1,23	2,19	1,78	0,70
150	66	muž	77	0,81	1,09	1,05	1,91	1,06	1,22
151	48	muž	88	0,79	1,35	1,31	2,10	1,88	0,63
152	46	muž	92	0,92	1,30	1,26	1,62	1,82	1,72
153	68	muž	110	1,52	0,97	0,90	0,70	1,23	1,40
154	26	muž	90	1,02	1,53	1,35	1,37	2,33	2,03
155	66	muž	88	0,93	1,26	1,17	1,59	1,23	2,28
156	65	žena	99	0,95	0,82	0,83	1,46	0,93	1,16
157	56	žena	62	0,95	1,45	1,34	1,46	1,90	2,14
158	68	muž	125	1,43	0,84	0,76	0,77	1,07	1,26
159	81	žena	87	1,08	0,91	0,84	1,18	0,93	1,16
160	62	žena	86	0,69	0,97	0,98	2,50	1,06	1,79
161	31	žena	83	0,65	1,18	1,16	2,76	1,53	1,37
162	56	žena	80	0,83	1,08	1,09	1,83	1,32	1,90
163	36	žena	90	1,05	1,04	1,07	1,23	1,17	1,50
164	56	žena	68	0,84	1,30	1,24	1,79	1,63	2,52
165	81	muž	97	1,26	1,08	0,94	0,96	0,96	1,34
166	37	muž	102	0,91	1,20	1,17	1,65	1,61	2,19
167	24	muž	107	0,87	1,25	1,11	1,78	2,06	2,06
168	35	muž	87	0,91	1,46	1,39	1,65	1,91	2,13
169	40	muž	103	1,24	1,17	1,14	0,98	1,64	2,21
170	62	žena	80	0,81	1,06	1,04	1,91	1,17	1,12
171	24	muž	106	0,93	1,26	1,12	1,59	2,07	2,38
172	31	žena	115	1,53	0,80	0,81	0,65	1,31	1,05
173	44	žena	96	0,85	0,92	0,97	1,76	1,41	1,85
174	20	žena	94	0,95	1,12	1,01	1,46	1,43	1,72
175	28	žena	95	0,88	1,03	1,02	1,66	1,35	1,63
176	67	žena	89	0,93	0,92	0,91	1,51	1,00	1,45
177	64	muž	158	2,09	0,65	0,53	0,41	0,78	1,53
178	68	muž	96	1,11	1,13	1,05	1,18	1,18	1,77
179	26	muž	97	0,96	1,38	1,24	1,51	1,84	1,90
180	44	muž	89	0,75	1,35	1,31	2,29	1,62	0,94
181	57	žena	77	0,95	1,13	1,12	1,46	1,46	1,09
182	53	žena	96	0,84	0,89	0,93	1,79	0,85	1,61
183	63	žena	71	0,86	1,21	1,15	1,72	1,30	1,49
184	22	žena	85	0,79	1,23	1,12	1,99	1,93	1,37
185	67	žena	88	0,99	0,93	0,92	1,36	1,13	1,24
186	72	žena	86	1,14	0,94	0,91	1,07	1,02	1,11
187	64	muž	127	1,64	0,83	0,77	0,61	0,98	1,09
188	40	muž	93	0,92	1,32	1,28	1,62	1,57	2,23
189	67	žena	86	1,11	0,96	0,95	1,12	0,82	1,81
190	28	muž	102	1,03	1,27	1,18	1,34	1,96	2,45
191	53	muž	97	0,99	1,18	1,15	1,44	1,75	1,89
192	23	muž	90	0,88	1,53	1,33	1,75	1,66	1,53
193	46	žena	93	0,78	0,95	0,99	2,03	1,36	1,25
194	40	žena	90	0,90	1,01	1,06	1,60	1,30	1,43
195	70	muž	148	2,17	0,68	0,58	0,38	0,71	1,06
196	40	muž	105	0,97	1,15	1,12	1,49	1,39	1,95

197	75	žena	107	1,54	0,73	0,71	0,65	0,71	1,05
198	49	muž	89	1,17	1,32	1,28	1,08	1,71	1,77
199	64	muž	139	1,65	0,75	0,67	0,61	0,87	1,22
200	56	muž	106	0,82	1,05	1,02	1,97	1,19	1,23
201	26	muž	98	1,02	1,36	1,23	1,37	1,82	1,63
202	23	muž	98	1,03	1,40	1,22	1,34	1,57	1,64
203	56	muž	98	0,78	1,15	1,12	2,14	1,29	1,90
204	34	muž	85	0,94	1,55	1,42	1,57	2,21	1,82
205	72	muž	99	1,00	1,08	0,98	1,41	1,10	2,02
206	38	muž	93	0,91	1,32	1,28	1,65	2,17	1,72
207	40	muž	98	1,03	1,25	1,21	1,34	1,53	1,68
208	70	muž	146	2,25	0,69	0,59	0,36	0,72	1,02
209	19	žena	84	1,09	1,28	1,12	1,16	1,53	1,54
210	19	muž	98	1,15	1,44	1,2	1,12	1,86	1,72
211	19	muž	99	0,95	1,42	1,19	1,54	2,07	1,58
212	28	muž	142	2,77	0,86	0,75	0,25	1,26	0,94